

Werner Pohlmann-Formann

Münster 1981



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Poliklinik
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
Direktor Prof. Dr. med. H. Losse

Beziehungen zwischen Serumfolsäure und Veränderungen
des Blutbildes. Eine Studie an 223 psychiatrisch
Kranken.

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Fachbereiche

5 Vorklinische und Theoretische Medizin und
6 Klinische Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Werner Pohlmann-Formann, geb. Pohlmann
aus Warendorf

1981

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster



Dekan : Prof. Dr. med. H. J. Kuchle

1. Berichterstatter : Prof. Dr. med. E. Heilmann

2. Berichterstatter : Prof. Dr. med. F. Bender

Tag der Promotion: 2.10. 1981

Aus der Medizinischen Poliklinik
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Referent: Prof. Dr. med. E. Heilmann

Korreferent: Prof. Dr. med. F. Bender

Z u s a m m e n f a s s u n g

Pohlmann-Formann, Werner

BEZIEHUNGEN ZWISCHEN SERUMFOLSÄURE UND VERÄNDERUNGEN DES
BLUTBILDES. EINE STUDIE AN 223 PSYCHIATRISCH KRANKEN.

Es wurden 223 Patienten, die sich in stationärer psychiatrischer Behandlung befanden, hinsichtlich Veränderungen des Blutbildes, des Differentialblutbildes, des Segmentationsgrades der neutrophilen, segmentkernigen Granulozyten und des Eisen- und Folsäuregehaltes im Serum untersucht. Von diesen Patienten wurden 29 mit Medikamenten vom Typ der Antikonvulsiva behandelt.

Von 32 Patienten mit Anämie zeigten 25 (78,1 %) subnormale Serumfolsäurekonzentrationen. Insgesamt wiesen 14,8 % der Patienten mit subnormalen Serumfolsäurespiegeln eine Anämie auf.

Hypersegmentation der neutrophilen, segmentkernigen Granulozyten im Blutbild fand sich bei 48 Patienten und ging jedesmal mit subnormalen Serumfolsäurekonzentrationen einher. In der Gruppe der 169 Patienten mit subnormalen Serumfolsäurekonzentrationen belief sich die Häufigkeit des Auftretens von Hypersegmentation des Blutbildes auf 28,4 %.

Bei 119 Patienten (53,4 %) lag die Serumfolsäurekonzentration unter 3 $\mu\text{g/l}$, bei 50 Patienten (22,4 %) im Bereich zwischen 3 und 4 $\mu\text{g/l}$, nur 53 Patienten (23,8 %) wiesen Normwerte auf, eine Patientin lag mit 23 $\mu\text{g/l}$ gerade jenseits der oberen Normgrenze.

Die antikonvulsiv behandelten Patienten wiesen signifikant niedrigere Serumfolsäurespiegel auf.

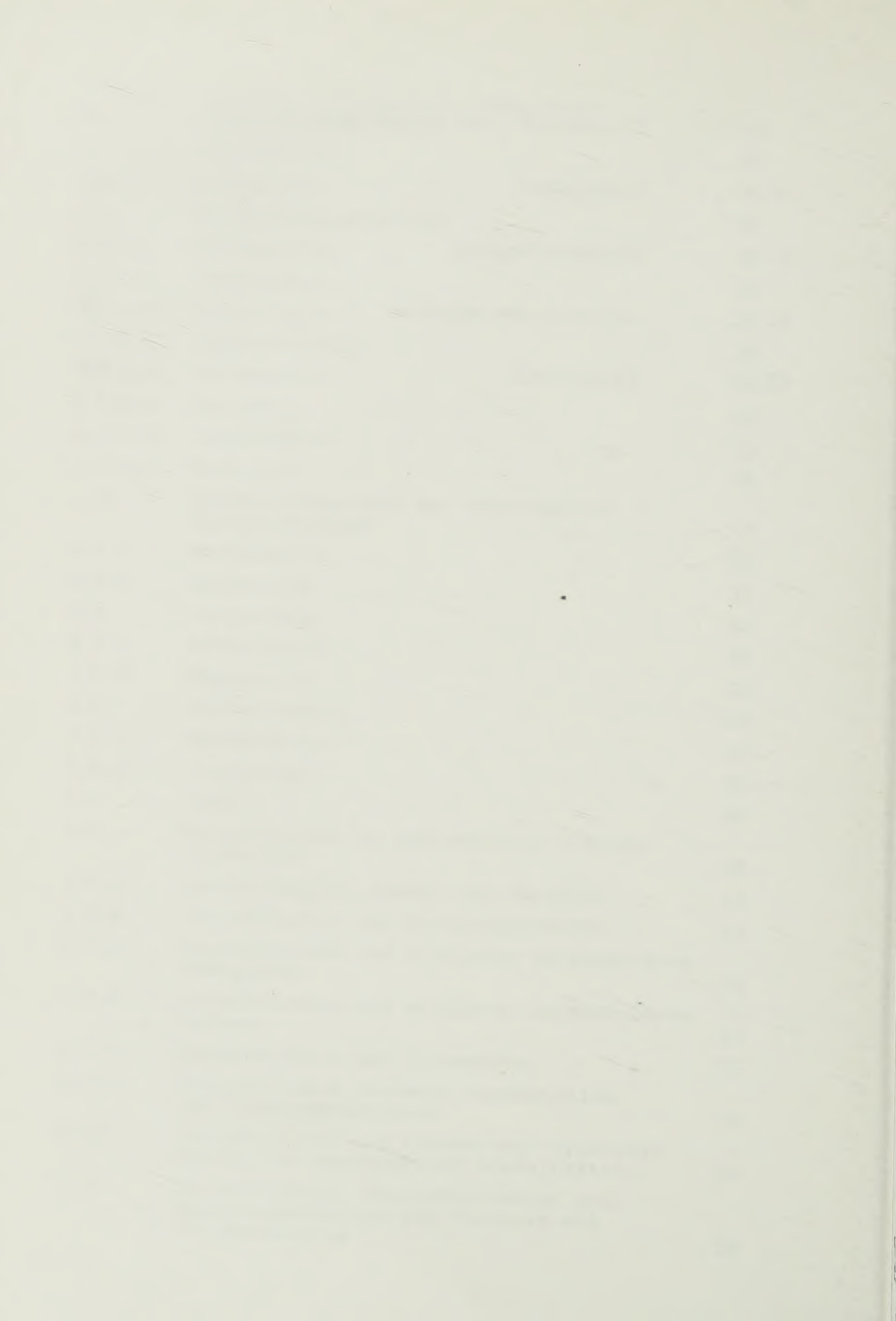
Inhaltsverzeichnis

Seite

I.	Einleitung	1
1.1.	Geschichtlicher Abriß	1
1.2.	Folsäurestoffwechsel	2
1.2.1.	Resorption, Transfer und Exkretion	2
1.2.2.	Funktion in Zellreaktionen	3
1.2.3.	Beziehung zwischen Folsäure und Vitamin B ₁₂	4
1.3.	Folsäuremangel	5
II.	Methodik	6
2.1.	Patientenkollektiv	6
2.2.	Untersuchungsmethoden	8
2.2.1.	Blutbild	8
2.2.1.1.	Coulterprinzip	8
2.2.1.2.	Abfolge der einzelnen Arbeitsgänge	8
2.2.2.	Differentialblutbild	12
2.2.2.1.	Durchführung der Auszählung	12
2.2.3.	Segmentation der neutrophilen Granulozyten	12
2.2.3.1.	Durchführung der Auszählung	12
2.2.4.	Eisenbestimmung	13
2.2.4.1.	Prinzip der Eisenbestimmung	13
2.2.4.2.	Durchführung der Bestimmung	14
2.2.5.	Folsäurebestimmung	14
2.2.5.1.	Prinzip der Folsäurebestimmung im Radioassay	15
2.2.5.2.	Ablauf der Vorgänge	16
III.	Ergebnisse	19
3.1.	Blutbilduntersuchungen	19
3.1.1.	Normalwerte	19
3.1.2.	Ergebnisse	19
3.1.2.1.	Hämoglobin	19
3.1.2.2.	Erythrozyten	23
3.1.2.3.	Mittleres corpuskuläres Volumen (MCV)	26
3.1.2.4.	Mittleres corpuskuläres Hämoglobin (MCH)	28

3.1.2.5.	Mittlere corpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC)	30
3.1.2.6.	Hämatokrit	30
3.1.2.7.	Leukozyten	34
3.2.	Differentialblutbild	36
3.2.1.	Normalwerte	36
3.2.2.	Ergebnisse	36
3.2.2.1.	Stabkernige	36
3.2.2.2.	Segmentkernige	36
3.2.2.3.	Eosinophile	36
3.2.2.4.	Basophile	37
3.2.2.5.	Lymphozyten	37
3.2.2.6.	Monozyten	37
3.3.	Segmentationsgrad der neutrophilen Segmentkernigen	37
3.3.1.	Normalwerte	37
3.3.2.	Ergebnisse	37
3.4.	Serumeisen	38
3.4.1.	Normalwerte	38
3.4.2.	Ergebnisse	38
3.5.	Serumfolsäure	39
3.5.1.	Normalwerte	39
3.5.2.	Ergebnisse	39
3.6.	Anämie	46
3.7.	Serumfolsäure in Beziehung zu anderen Parametern	48
3.7.1.	Serumfolsäure, Anämie und Normämie	48
3.7.2.	Serumfolsäure und Erythrozytenzahl	49
3.7.3.	Serumfolsäure und mittleres corpuskuläres Hämoglobin	51
3.7.4.	Serumfolsäure und mittleres corpuskuläres Volumen	51
3.7.5.	Serumfolsäure und Serumeisen	55
3.7.6.	Serumfolsäure, normale Segmentation und Hypersegmentation	55
3.7.7.	Serumfolsäure und Prozentsatz hypersegmentierter neutrophiler Granulozyten	56
3.8.	Serumfolsäure, Blutbildparameter und Hypersegmentation bei Therapie mit Antikonvulsiva	58

3.9.	Eisenmangel und Hypersegmentation	60
IV.	Diskussion	61
V.	Zusammenfassung	83
VI.	Literaturverzeichnis	85
VII.	Lebenslauf	102



I. Einleitung :

1.1. Geschichtlicher Abriß

Mit der Isolierung der Folsäure durch MITCHELL et al. 1941 (89), HUTCHINGS et al. 1941 (70), PFIFFNER et al. 1943 (94) und STOKSTAD 1943 (120), ihrer chemischen Synthese durch ein Team amerikanischer Chemiker unter Leitung von ANGIER 1946 (2) und der Bestätigung dieser Ergebnisse durch JUKES und STOKSTAD 1948 (73) verbindet sich die Erkenntnis, daß mehrere, von verschiedenen Wissenschaftlern gefundene Faktoren und Vitamine identisch waren mit eben jener Folsäure, die von MITCHELL (89) ihren Namen bekam, nachdem er aus Spinat einem dem "Lactobacillus casei-Faktor" ähnlichen Wachstumsfaktor für "Streptococcus lactis R" gewonnen hatte. Es waren dies der von WILLS 1937 (137) geforderte "Wills-Faktor", der - enthalten in einem Hefeextrakt - im Gegensatz zu allen bis dahin bekannten Vitaminen oder gereinigten Leberextrakten einen guten therapeutischen Effekt bei der Behandlung einer ernährungsbedingten megaloblastischen Anämie schwangerer Frauen zeigte, das von DAY et al. 1935 (25) entdeckte Vitamin "M", ein in Hefe- und Leberextrakten enthaltenes Vitamin, das bei Affen durch entsprechende Diät hervorgerufene Blutbildveränderungen rückgängig machte, als auch das für ein normales Kükenwachstum erforderliche Vitamin "B_C" von HOGAN und PARRROT (65) und der von SELL und PETERSON 1940 (119) gefundene Wachstumsfaktor für Lactobacillus casei - von ihnen "Norit eluate factor" genannt.

Mit der Entwicklung des Lactobacillus casei-Assay - einem mikrobiologischen Assay, dessen Grundlage der Verbrauch von Folsäure als Wachstumsfaktor durch Lactobacillus casei ist - durch BAKER et al. (4) im Jahre 1959 war der medizinischen Forschung und Diagnostik eine Methode an die Hand gegeben, mit der die Folsäure quantitativ exakt bestimmbar ist (55/56). Seitdem sind viele Untersuchungen über die geographische Verbreitung und das Auftreten von Folsäuremangelzuständen in Verbindung mit anderen Erkrankungen veröffentlicht

worden (12/58/56), die aufzeigen, daß der Folsäuremangel mit zu den am häufigsten vorkommenden Vitaminmangelzuständen gehört, sowohl in den meisten Entwicklungsländern als auch in den hochindustrialisierten Ländern Amerikas und Europas.

1.2. Folsäurestoffwechsel

1.2.1. Resorption, Transfer und Exkretion

Folsäure - mit chemischem Namen Pteroylglutaminsäure - kommt ubiquitär in der Natur vor, sie findet sich in den

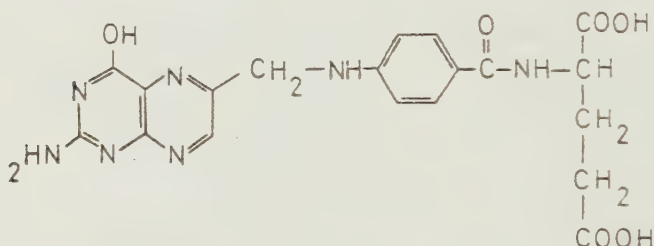


Abb. 1 Strukturformel der Folsäure
(Pteroylmonoglutamat)

meisten Pflanzen und tierischen Geweben mit sehr hohen Konzentrationen in Hefe, frischem, grünem Gemüse und Leber (54). Sie liegt dort hauptsächlich in der Form von monocarbonsubstituierten Tetrahydrofolsäure- Polyglutamaten vor (10/52), die aus 3 - 7 über gamma - Peptidbindungen verknüpften Glutaminsäuremolekülen bestehen (83). Die mit der Nahrung zugeführte Folsäure wird vor allem im proximalen Drittel des Dünndarms nach Hydrolysierung der Polyglutamate durch das Enzym Folsäurekonjugase in einem aktiven, Energie verbrauchenden Prozeß in der Form von Monoglutamaten resorbiert (54).

Der Transport im Blut zu den verbrauchenden Zellen, vor allem denen des Knochenmarkes, erfolgt an ein Protein gebunden (54), wobei die Folsäure in aktiver Coenzymform zu 90% als 5-Methyl-Tetrahydrofolsäure vorliegt (96). Intrazellulär erfolgt eine Rekonjugierung zu Polyglutamaten, der Coenzymform

der Zelle; in den Erythrozyten, die die Folsäure im Entwicklungsstadium des Reticulozyten und früher aufnehmen (51), handelt es sich dabei hauptsächlich um Pentaglutamate (93), ansonsten bestanden die Konjugate aus 2-7 Glutaminsäuremolekülen (59). Die Exkretion der Folsäure erfolgt über den Urin und die Galle (18/39/59).

1.2.2. Funktion in Zellreaktionen

Die Hauptfunktion der Folsäure besteht im Transfer von Monocarbongruppen bei verschiedensten Synthesereaktionen:

a) De novo Purinsynthese

Die Einschleusung der Kohlenstoffatome in Position 8 und 2 des Puringerüsts erfordert Folsäure in zwei unterschiedlichen Coenzymformen. In der ersten Reaktion entsteht aus Glycinamid-Ribonucleotid durch Formylierung Formyl-Glycinamid-Ribonucleotid, wobei das Kohlenstoffatom C8 aus 5-10-Methenyl-Tetrahydrofolsäure unter Mitwirkung einer Transformylase eingeführt wird. Nach Kondensierung zum Imidazolring erfolgt in der zweiten folsäureabhängigen Reaktion der Einbau des Kohlenstoffatoms C2 durch Transfer aus 10-Formyl-Tetrahydrofolsäure, wodurch der Purinring zur Inosinsäure geschlossen wird (59/83).

b) Pyrimidinsynthese

Bei der Pyrimidinsynthese ist Folsäure nicht erforderlich zur Pyrimidinringsynthese, sondern zur Methylierung der Nucleinsäure Uridin zu Thymin, einem limitierenden Schritt der DNA-Synthese. Das Enzym Thymidinsynthetase überträgt die Methylengruppe von 5-10-Methylen-Tetrahydrofolsäure, wobei gleichzeitig die Methylengruppe zur Methylgruppe reduziert und die Tetrahydrofolsäure zur Dihydrofolsäure oxidiert wird. Um die Kontinuität dieser Synthese zu garantieren, ist es erforderlich, die laufend entstehende Dihydrofolsäure mittels einer Reduktase zu Tetrahydrofolsäure, dem Methyl-Donator der Pyrimidinsynthese, zurückzuverwandeln. Folsäure-antagonisten, die dieses Enzym hemmen, schränken somit die Synthese der Nucleinsäure Thymin und damit die gesamte DNA-Synthese ein (59/83).

c) Aminosäuren

Bei der Überführung von Serin nach Glycin dient Tetrahydrofolsäure als Monocarbonacceptor, es entsteht 5-10-Methylen-Tetrahydrofolsäure, ein notwendiger Baustein der Pyrimidinsynthese. Serin ist in diesem Zusammenhang als Quelle der C_1 -Einheiten anzusehen. Da diese Reaktion reversibel ist, läßt sich die Tatsache erklären, daß Glycin eine Megaloblastose aggravierend kann (130). Formiminoglutamat (Figlu) ist ein Intermediärprodukt beim enzymatischen Abbau der basischen Aminosäure Histidin. Das Enzym Formiminotransferase überträgt beim weiteren Abbau des Figlu die Formiminogruppe auf Tetrahydrofolsäure, so daß Formimino-Tetrahydrofolsäure und Glutaminsäure entstehen. Bei Folsäuremangel erscheint Figlu wegen des dadurch bedingten Abbaustops vermehrt im Urin; besonders hoch sind die Urinkonzentrationen von Figlu nach Histidinbelastung, was zu diagnostischen Zwecken genutzt wird (59).

d) Formiat

Bei der Aktivierung von Formiat dient Folsäure in der Form der 10-Formyl-Tetrahydrofolsäure als Coenzym des Transfers in der Purinsynthese (83).

1.2.3. Beziehung zwischen Folsäure und Vitamin B_{12}

Folsäuremangel und Vitamin B_{12} -Mangel rufen im menschlichen Knochenmark die gleichen Zellveränderungen hervor, ein Phänomen, das durch die Wechselbeziehung dieser beiden als Coenzyme fungierenden Vitamine seine Erklärung findet. Die Umwandlung von 5-10-Methylen-Tetrahydrofolsäure in 5-Methyl-Tetrahydrofolsäure ist eine irreversible Reaktion, während alle anderen Umwandlungen von Folsäurecoenzymformen umkehrbar sind (59). Die Regeneration von Tetrahydrofolsäure, Acceptor der verschiedensten Monocarbongruppen, aus 5-Methyl-Tetrahydrofolsäure vollzieht sich über Methylierung des Homocysteins zu Methionin, eine Reaktion, die Vitamin B_{12} als Coenzym erfordert. Bei Vitamin B_{12} -Mangel stagniert also die Bereitstellung von unsubstituierter Tetrahydrofolsäure, es häuft

sich 5-Methyl-Tetrahydrofolsäure an, während die anderen Coenzymformen in entsprechend geringerer Menge zu Reaktionen der Purin- und Pyrimidinsynthese zur Verfügung stehen; die Folge ist Megaloblastose des Knochenmarks durch eingeschränkte DNA-Synthese (59/83). Dieser Erklärungsansatz ist unter dem Begriff "methyl-tetrahydrofolate trap" bekannt (61).

1.3. Folsäuremangel

Die Ursachen eines Folsäuremangels erstrecken sich von falscher Kochweise bis hin zu Verwertungsstörungen durch angeborenen Enzymmangel (54), Mangelzustände entwickeln sich in der Schwangerschaft durch erhöhten Bedarf, bei Malabsorptionssyndromen sowie bei Einnahme von Medikamenten als Nebenwirkung, beispielsweise der Antiepileptika (102), oder als Hauptwirkung bei der Tumorthherapie mit Folsäureantagonisten. Eine der Hauptursachen jedoch dürfte die verminderte Zufuhr mit der Nahrung ausmachen, was neben einem mangelhaften Angebot an folsäurehaltigen Nahrungsmitteln auf fehlerhafte Ernährungsgewohnheiten zurückzuführen ist (58/68/134). Ein entsprechend hoher Prozentsatz an Folsäuremangelzuständen findet sich unter alten Menschen, psychisch Kranken, Alkoholikern und chronisch Kranken (97/134). Begünstigt wird das Auftreten eines Mangelzustandes durch die geringen Körperreserven an Folsäure, die bei folsäurefreier Diät für weniger als einen Monat auszureichen scheinen (53), wobei die Zufuhr an resorbierbaren Folaten mit der Nahrung limitiert ist. So enthält normale Nahrung ungefähr 0,5 - 0,7 mg Folsäure, die resorbierbare Menge beträgt ca. 0,27 mg (69). Da der tägliche Verbrauch an Folaten mit 0,1 - 0,2 mg relativ hoch ist - die "Joint FAO/WHO Expert Group" (139) empfiehlt entsprechend eine tägliche Aufnahme von 0,2 mg -, ergibt sich verständlicherweise ein labiles Gleichgewicht des Folsäurehaushaltes (69).

II. Methodik:

2.1. Patientenkollektiv

Das Untersuchungskollektiv ist ausgewählt nach psychiatrischen Krankheitsbildern. In die Studie aufgenommen wurden nur Patienten, die an einer Psychose oder Demenz erkrankt waren. Auf eine weitere Unterteilung der psychotischen Krankheitsbilder wurde verzichtet.

Insgesamt wurden 223 Patienten untersucht, von denen sich 183 Patienten zur stationären Behandlung im LKH Münster und 40 Patienten im psychiatrischen Krankenhaus St. Rochus in Telgte befanden. Es erklärten sich insgesamt 153 Frauen und 65 Männer zur Teilnahme an dieser Studie bereit.

Das Alter der weiblichen Patienten lag zum Zeitpunkt der Untersuchung zwischen 18 und 88 Jahren bei einem Durchschnittsalter von 56,1 Jahren, das der männlichen Patienten zwischen 19 und 78 Jahren bei einem Durchschnittsalter von 46,3 Jahren. Eine graphische Darstellung der Alters- und Geschlechtsverteilung findet sich in Abbildung 2.

Die Aufenthaltsdauer - es wurde nur die Periode vom Aufnahmetag zur letzten Behandlung bis zum Stichtag der Untersuchung zugrunde gelegt - beträgt im Mittel 158,4 Monate und erstreckt sich über ein Intervall von 1 Monat bis hin zu 47 Jahren.

Die von den Patienten eingenommenen Medikamente aus der Gruppe der Antikonvulsiva wurden bzgl. ihres Einflusses auf den Folsäuregehalt des Serums untersucht. Die Patienten, die mit Antikonvulsiva behandelt wurden, sind den nicht antikonvulsiv behandelten gegenübergestellt worden.

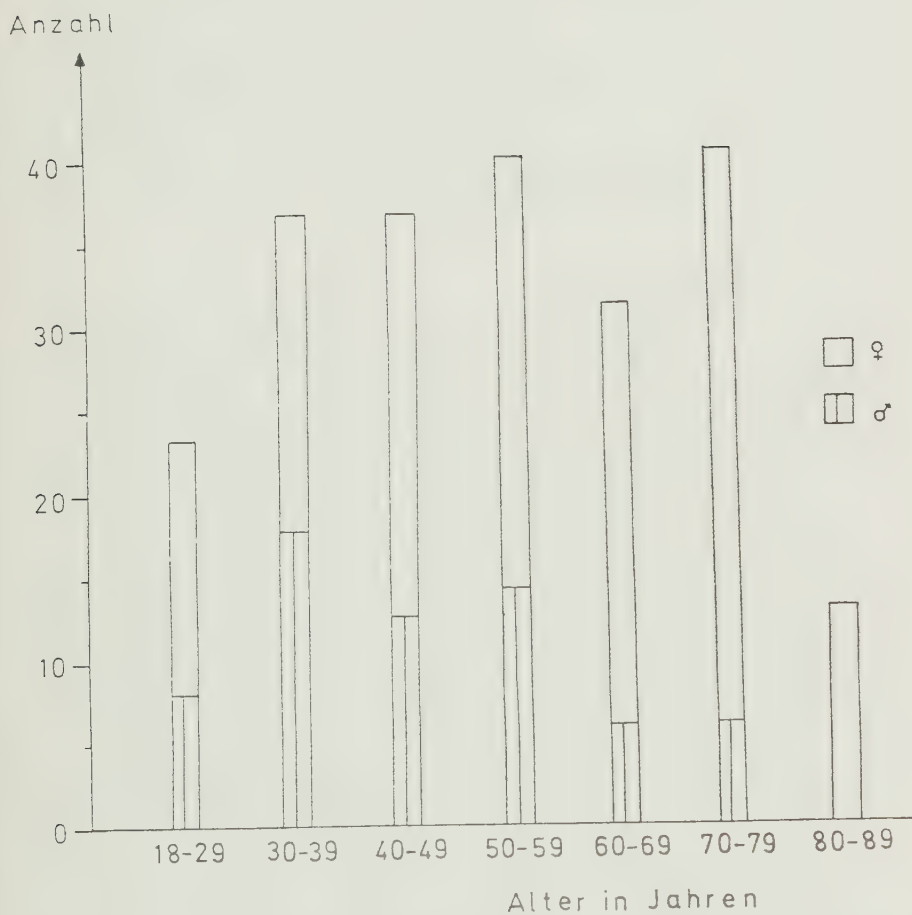


Abb. 2 Alters- und Geschlechtsverteilung

2.2. Untersuchungsmethoden

2.2.1. Blutbild

Von jedem Patienten wurden die Werte für die Leukozytenzahl, Erythrozytenzahl, Hämoglobin-Genalt, mittleres corpuskuläres Volumen (MCV), mittleres corpuskuläres Hämoglobin (MCH), mittlere corpuskuläre Hämoglobin-Konzentration (MCHC) und Hämatokrit ermittelt. Für die Bestimmung all dieser Parameter wurde ein Coulter Counter Modell "S" verwandt. Dieses Gerät arbeitet nach dem Prinzip der elektronischen Zellzählung, dem sogenannten Coulterprinzip.

2.2.1.1. Coulterprinzip

Blutkörperchen haben im Vergleich zu verdünnten Elektrolytlösungen nur eine sehr geringe Leitfähigkeit für den elektrischen Strom; diese Eigenschaft läßt sich zur Zählung von Blutkörperchen ausnutzen (11/23). In einem Gefäß befindet sich das mit einer auf pH 7,4 gepufferten isotonen Elektrolytlösung verdünnte Blut, in das die äußere Elektrode eines Stromkreises eintaucht. Über eine kapillare Öffnung steht diese Flüssigkeit mit dem inneren Elektrodenkreis in Verbindung. Wird die Blutkörperchensuspension durch diese Kapillare hindurchgesogen, so erzeugt jedes hindurchtretende Partikelchen eine Widerstandsänderung, deren Größe seinem Volumen proportional ist. Diese Impulse werden elektronisch gezählt.

Der Coulter Counter Modell "S" mißt direkt Leukozyten- und Erythrozytenzahl, Hb-Gehalt und MCV. MCH, MCHC und Hämatokrit werden aus den direkt gemessenen Größen errechnet.

2.2.1.2. Abfolge der einzelnen Arbeitsgänge

Jedem Patienten wurden 2 ml Venenblut abgenommen, in EDTA-Röhrchen gefüllt und gründlich gemischt, wobei darauf geachtet wurde, daß es durch zu kräftiges Schütteln nicht zur Hämolyse kam.

Ca. 1,2 ml des mit EDTA versetzten Blutes werden von dem Coulter Counter angesogen, wobei lediglich 44,7 μ l zur Bestimmung der einzelnen Meßwerte gebraucht werden, der Rest dient dazu, das Blut der vorherigen Probe auszuwaschen.

In dem ersten Verdünnungsschritt werden zu diesen 44,7 μ l Blut 10 ml einer partikelfreien, isotonen Verdünnungslösung angesogen, so daß ein Verdünnungsverhältnis von 1:224 entsteht. Diese verdünnte Lösung wird in zwei Anteile gespalten. Der erste Anteil wird mit einem hämolysierenden Agens gemischt, das die Erythrozyten zerstört, gleichzeitig jedoch die Leukozyten nicht angreift. Bei der Hämolyse wird das freiwerdende Hämoglobin gleichzeitig in Cyanmethämoglobin überführt. Es entsteht in diesem Gemisch schließlich ein Verdünnungsverhältnis von 1:250. Der zweite Anteil dient zur Bestimmung der Erythrozytenzahl und des mittleren Erythrozytenvolumens nach einer weiteren Verdünnung auf 1:50000.

Aus dem zweiten Gemisch, verdünnt auf 1:50000, wird in drei Kammern gleichzeitig die Erythrozytenzahl und das MCV nach dem Coulterprinzip ermittelt. Die Anzahl der Impulse ergibt die Erythrozytenzahl, aus den jeweiligen Impulshöhen wird das MCV ermittelt. Der Mittelwert dieser Dreifachbestimmung wird für die roten Blutzellen als Erythrozyten $\times 10^{12}/l$ bzw. Erythrozyten $\times 10^6/mm^3$ ausgedruckt, das Volumen wird in fl bzw. μ^3 angegeben. Der Informationsgehalt dieser beiden Parameter ist auf Grund der exakten Meßmethode größer als der von konventionellen Techniken, die eine größere Ungenauigkeit bei der Erythrozytenzählung aufweisen und das MCV aus Erythrozytenzahl und Hämatokrit berechnen (114).

Nach einem fixen Intervall für Hämolyse und Überführung von Hämoglobin in Cyanmethämoglobin passiert dieses erste Gemisch ein Hämoglobinometer, in dem der Hb-Gehalt von einer photosensitiven Zelle proportional zur Schwächung eines durchtretenden Lichtstrahls ermittelt wird. Der gemessene Wert wird als mmol/l bzw. g/100 ml ausgedruckt. Dieses Meßsystem arbeitet unter anderem dank einer einfachen Calibrierung sehr genau, denn 1 Volt Spannungsänderung entspricht genau 1 g Hämoglobin (114).

Nach Durchfließen des Hämoglobinometers wird aus diesem Gemisch in drei Zählkammern gleichzeitig nach dem Coulterprinzip die Leukozytenzahl ermittelt; der Mittelwert dieser drei Bestimmungen wird als Leukozyten $\times 10^9/l$ bzw. als Leukozyten $\times 10^3/mm^3$ ausgedruckt. Die Leukozytenzählung erfordert

eine gründliche Hämolyse, die die Erythrozyten als Fehlerquelle für falsch hohe Leukozytenzahlen ausschließt; zudem muß die Detektorschaltung so abgeglichen sein, daß Reste von Erythrozytenhüllen in einer Rauschzone liegen, die keine Verfälschung der Leukozytenzählung verursacht. Um eine Ionenbeeinflussende Verklebung der 100 µm großen kapillaren Durchtrittsöffnungen durch Proteine zu vermeiden, ist im Coulter Counter eine Spülvorrichtung eingebaut, die nach jeder Bestimmung automatisch in Betrieb gesetzt wird.

Der Hämatokritwert wird im Coulter Counter Modell "S" nicht direkt bestimmt, sondern errechnet als das Produkt aus Erythrozytenzahl x MCV. Er stellt den prozentualen Anteil der Erythrozyten am Gesamtblut dar und wird auch als gedrängtes Zellvolumen bezeichnet. Die Reproduzierbarkeit der ermittelten Ergebnisse ist mit der Meßmethode des Coulter Counter Modell "S" besser als mit der sonst üblichen Mikrohämatokritmethode (14). Außerdem unterliegt diese Methode dank der hohen Verdünnung auf 1:50000, bei der die zur Hämatokritberechnung nötigen Parameter gemessen werden (13), nicht dem Effekt einer zu hohen EDTA-Konzentration, der proportional zur Konzentration des Antikoagulanz die Erythrozyten schrumpfen läßt und damit eine Fehlerquelle für falsch niedriger Hämatokritwerte darstellt.

Das MCH wird ermittelt als Quotient Hb-Gehalt/Erythrozytenzahl und in fmol/Erythrozyt bzw. pg/Erythrozyt angegeben; es wird als Kriterium zur Einteilung der Anämien benutzt.

Das MCHC wird vom Coulter Counter Modell "S" als Quotient Hämoglobin-Gehalt/Hämatokrit errechnet und ausgedrückt als mmol Hämoglobin/l Erythrozyten bzw. als g Hb/100 ml Erythrozyten oder auch als Prozentangabe. Die MCHC stellt ein Maß für die Hämoglobinkonzentration eines Erythrozyten mittleren Volumens dar.

Eine graphische Darstellung der Arbeitsgänge im Coulter Counter Modell "S" zeigt in Form eines Flußdiagrammes Abbildung 3.

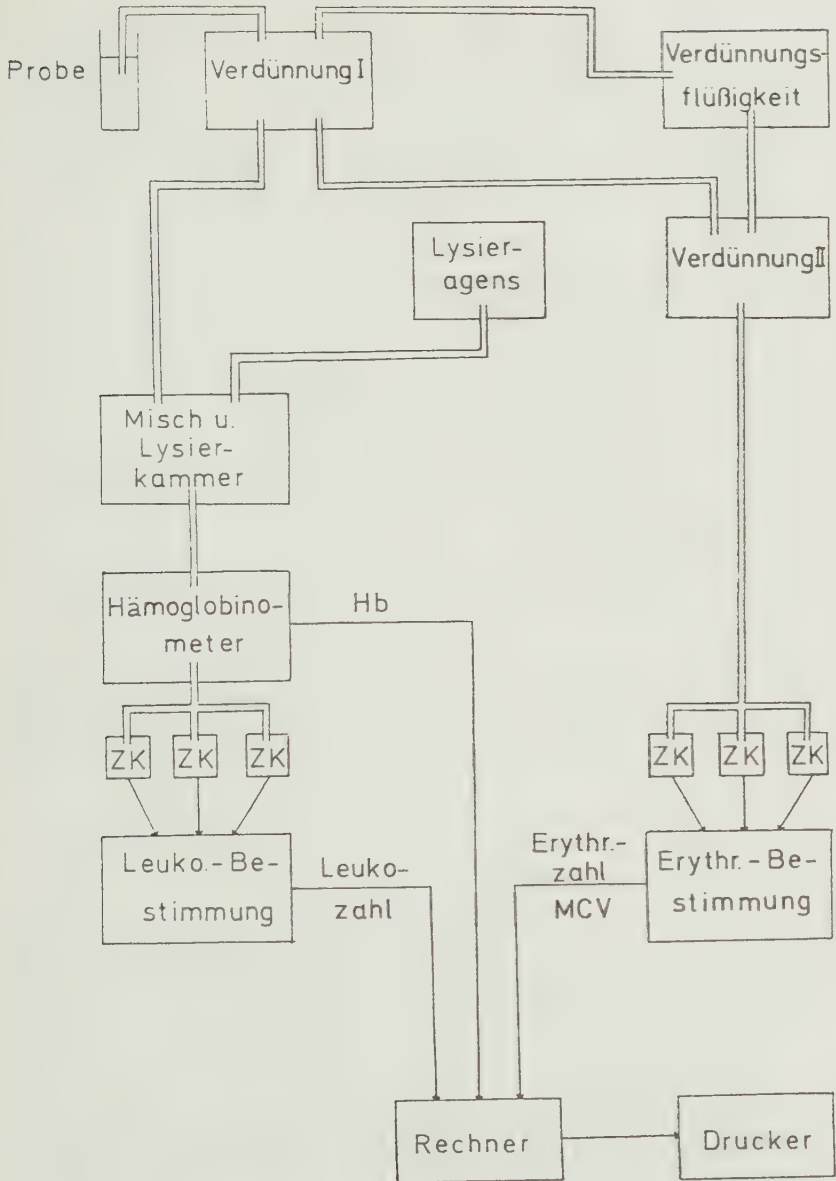


Abb. 3 Flußdiagramm des Coulter Counter Modell "S"

2.2.2. Differentialblutbild

Von jedem Patienten wurde ein Blutaussstrich zur Erstellung eines Differentialblutbildes angefertigt. Es wurden die segmentkernigen und stabkernigen Neutrophilen, die Eosinophilen, die Basophilen, die Lymphozyten und die Monozyten gezählt.

2.2.2.1. Durchführung der Auszählung

Aus jedem Röhrchen der für die Coulter Counter Meßung bestimmten, mit EDTA versetzten Blutproben wurde ein Blutstropfen auf einem sauberen Objektträger mit einem sauberen, geschliffenen Deckgläschen ausgestrichen, so daß ein gleichmäßiger, dünner Blutaussstrich entstand.

Nach Antrocknen des so angefertigten Präparates erfolgte die panoptische Färbung nach Pappenheim. Dazu wurden die Ausstrichpräparate auf einer Farbbank für drei Minuten mit May-Grünwaldlösung bedeckt, wobei neben der Färbung gleichzeitig eine Fixierung erreicht wird. Anschließend wurden zu dieser Lösung mit einer Pipette 4 ml Aqua dest. hinzugegeben, nach einer Minute wurde die Farblösung abgegossen. Danach wurde das Ausstrichpräparat kurz abgespült und während fünfzehn Minuten auf der Färbefbank mit Giemsa-Lösung gefärbt. Nach Beendigung des Färbvorgangs wurde das Präparat kraftig mit Aqua dest. abgespült und zum Trocknen aufgestellt.

Zur Differenzierung des Blutaussstriches wurden 100 Leukozyten ausgezählt. Der Ausstrich wurde in dünnen, gut zu beurteilenden Bereichen mäanderförmig durchmustert. Dazu wurde ein Objektiv mit 100-facher Vergrößerung bei Verwendung von Ölimmersion und ein Okular mit 8-facher Vergrößerung benutzt. Die Angabe der gezählten Zellen erfolgte in Prozent.

2.2.3. Segmentation der neutrophilen Granulozyten

Der Blutaussstrich eines jeden Patienten wurde hinsichtlich der Segmentation der neutrophilen polymorphkernigen Granulozyten untersucht.

2.2.3.1. Durchführung der Auszählung

Die Blutaussstriche wurden wie unter 2.2.2.1. beschrieben angefertigt.

Die Beurteilung erfolgte mit Ölimmersion bei 800-facher Ver-

größerung - als Minimum gefordert wird eine 500-fache Vergrößerung (18) -. In dünnen, gut zu beurteilenden Bereichen des Ausstriches wurden 200 neutrophile, polymorphkernige Granulozyten ausgezählt; von diesen wurde die Anzahl an Zellen notiert, die in ihrem Kern 5 und mehr Segmente, also eine hypersegmentierte Kernstruktur darboten (20). Eine Kernstruktur wurde dann als separates Segment eingestuft, wenn sie deutlich als von anderen Segmenten getrennt zu erkennen oder durch einen schmalen Chromatinfaden mit einem anderen Segment verbunden war. Kernstrukturen, die über einen groben Chromatinstreifen in Verbindung standen, wurden nicht als separate Segmente betrachtet; ebenso wurden Zellen, bei denen häufiges Überlappen der Kernstruktur eine exakte Bestimmung der Segmentzahl unsicher machte, von der Zählung ausgeschlossen.

Die Anzahl der hypersegmentierten Neutrophilen wurde als Prozentsatz dieser 200 beurteilten Zellen angegeben.

2.2.4. Eisenbestimmung

Für jeden Patienten wurde der Eisengehalt des Blutserums ermittelt. Die Untersuchung erfolgte mittels der "Test-Combination Eisen" von Boehringer Mannheim und wurde nach folgender Methode durchgeführt.

2.2.4.1. Prinzip der Eisenbestimmung

Bei der Test-Combination Eisen handelt es sich um ein Bestimmungsverfahren mit Enteiweißung.

Das dreiwertige, an Transferrin gebundene Eisen wird mittels HCL von diesem spezifischen Transportprotein abgelöst, anschließend findet Denaturierung durch Trichloressigsäure statt. Das freigesetzte Eisen wird durch Natriumpyrosulfit und p-Methyl-Aminophenol zu zweiwertigem Eisen reduziert, dessen Konzentration mit dem Komplexbildner Bathophenanthrolin sehr genau gemessen werden kann, da diese Substanz mit Eisen-II-Ionen einen rot gefärbten Komplex mit hohem spezifischen mikromolaren Extinktionskoeffizienten bildet, so daß eine photometrische Meßung sehr genaue Ergebnisse liefert (124).

2.2.4.2. Durchführung der Bestimmung

Je 2 ml Serum werden mit 1 ml HCl versetzt, gut gemischt und nach 20 Minuten unter Zugabe von 1 ml Trichloressigsäure während 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird in ein trockenes Reagenzglas abgegossen. Von diesem eiweißfreien Überstand werden 2 ml zu 1 ml der Chromogenlösung pipettiert, die aus den Reduktionsmitteln, dem Farbkomplexbildner und einem Natriumacetatpuffer mit pH 4,6 besteht. Das so aufbereitete Patientenserum und der Standard werden gegen einen Leerwert gemessen.

Die photometrische Meßung erfolgt mittels eines Spektral-photometers bei einer Küvettschichtdicke von 1 cm und einer Wellenlänge von 540 nm.

Die Berechnung der Eisenkonzentration (c) in der Probe erfolgt mit Hilfe der gemessenen Extinktion (E) nach folgender Formel:

$$c = 100 \times \frac{E_{\text{Probe}}}{E_{\text{Standard}}} \quad (\mu\text{mol/l bzw. } \mu\text{g/100ml})$$

Zur Untersuchung wurden nur eisenfreie Kunststoffröhrchen und mit verdünnter Salzsäure und destilliertem Wasser gespülte Glasgeräte benutzt, um eine Eisenkontamination auszuschließen.

2.2.5. Folsäurebestimmung

Bei jedem Patienten wurde der Folsäuregehalt des Blutserums ermittelt. Die Untersuchung wurde mit dem Schwarz/Mann SimulTRAC Vitamin B₁₂ (⁵⁷Co) Folate (¹²⁵J) Radioassay Kit durchgeführt, einer schnellen und genauen Methode zur Bestimmung von Vitaminkonzentrationen in einem kleinen Volumen an Serum (27/64).

Die ersten Mitteilungen über einen Radioassay zur Folsäurebestimmung stammen aus dem angloamerikanischen Schrifttum (54/110/123/132/133). Vor der Entwicklung dieser neuen Methode wurde die Folsäurekonzentration mit dem mikrobiologischen Lactobacillus casei- oder Streptococcus faecalis-Assay gemessen (43/50/57/129), der mehr und mehr durch die Radioassaytechnik ersetzt wird, da zum einen die Ergebnisse dieser beiden Bestimmungssysteme sehr gut miteinander korrelieren (111/128),

zum andern das Vorhandensein von Antibiotica und Antimetaboliten im Blut damit behandelter Patienten die Genauigkeit des Radioassay nicht beeinflußt im Gegensatz zum mikrobiologischen Assay, der unter solchen Bedingungen falsch niedrige Werte infolge Wachstumseinschränkung der Bakterien angibt (98/115).

Der Schwarz/Mann SimulTRAC Radioassay für Vitamin B₁₂ und Folsäure ermöglicht eine gleichzeitige Bestimmung beider Vitamine, die darauf aufbaut, daß die beiden verwendeten Radioisotope Impulse auf verschiedenen Energieniveaus ausstrahlen, die mit einem entsprechend ausgerüsteten Szintillationszähler getrennt gemessen werden können. Die Folsäurebestimmung arbeitet nach folgendem Prinzip:

2.2.5.1. Prinzip der Folsäurebestimmung im Radioassay

Der Folsäureradioassay funktioniert auf der Grundlage der kompetitiven Hemmung bezüglich der Bindung von markierter und unmarkierter Folsäure (27/87/110/131/90) an ein aus Milch gewonnenes spezifisches Bindungsprotein (35/37). Das folgende Schema faßt die Reaktion zusammen.



Abb. 4 Prinzip der kompetitiven Proteinbindung

In diesem Schema steht S für die unmarkierte Folsäure im Standard bzw. Serum, S⁺ repräsentiert die mit ¹²⁵J markierte Folsäure und R das spezifische Bindungsprotein. Die unmarkierte Folsäure (S) des Serums bzw. des Standards konkurriert mit der markierten Folsäure (S⁺) um die nur in beschränktem Umfang verfügbaren Bindungsstellen des Milchproteins (R), so daß die Anzahl der markierten, gebundenen Folsäuremoleküle reduziert wird. Somit steht die Höhe gebundener Radioaktivität in reziprokem Verhältnis zur Folsäurekonzentration im Patientenserum bzw. im Standard.

Dieser Assay benutzt die Pteroylglutaminsäureform der Folsäure sowohl als Standard als auch als Tracer in einem Reak-

tionsgemisch, das auf pH 9,3 gepuffert ist. Bei diesem pH zeigen 5-Methyl-Tetrahydrofolsäure und Pteroylglutaminsäure die gleiche Affinität zum Bindungsprotein, was in anderen pH-Bereichen nicht der Fall ist (110/113). Diese Bedingung muß erfüllt sein, da im menschlichen Serum 5-Methyl-Tetrahydrofolsäure die vorherrschende Form der Folsäure darstellt (60), andererseits Pteroylglutaminsäure wegen der gegenüber 5-Methyl-Tetrahydrofolsäure höheren Stabilität die Lebensdauer des Kit erheblich verlängert und die Genauigkeit der Bestimmungen gewährleistet (113).

Die im menschlichen Serum vorhandenen Folsäurebindungsproteine werden durch Erhitzen der Proben zerstört, so daß eine Bestimmung deren Bindungskapazität entfällt. Die nach dem Erhitzen zugefügten konstanten Mengen an Tracer und Bindungsprotein reagieren während 45 Minuten im Sinne der kompetitiven Proteinbindung mit der im Standard bzw. Serum enthaltenen Folsäure. Die Trennung von gebundener ($R-S$ und $R-S^+$) und freier Folsäure (S und S^+) erfolgt mittels Adsorption der ungebundenen Moleküle an Aktivkohle.

Nach Zentrifugation der gut mit Aktivkohle durchmischten Lösung werden die Überstände, die markierte und unmarkierte, an das Milchprotein gebundene Folsäure ($R-S$ und $R-S^+$) enthalten, dekantiert, und ihre Radioaktivität wird in einem Gamma-Szintillationszähler gemessen.

Aus den ermittelten Werten für den Standard wird eine Standardkurve erstellt, aus der durch Interpolation die Folsäurekonzentrationen der Patienten bestimmt werden.

2.2.5.2. Ablauf der Vorgänge

Den nüchternen Patienten wurde morgens Venenblut abgenommen, da Nahrungsaufnahme den Serumfolsäurespiegel beeinflusst (18/98). Die Sammelröhrchen enthielten kein Antikoagulum, da Serumproben untersucht werden sollten. Die Blutgerinnung lief bei Raumtemperatur ab.

Die zu untersuchenden Proben wurden anschließend während 10 Minuten bei einer relativen Zentrifugalkraft von 850 - 1000 g zentrifugiert. Die so gewonnenen Serumproben wurden bis zur Bestimmung bei 2°C gelagert.

Hämolysierte Serumproben wurden verworfen wegen der zu erwartenden Erhöhung der Serumfolsäurekonzentration durch aus den Erythrozyten austretende Folsäure.

Die Durchführung der Folsäurebestimmung erfolgte nach den Angaben des Herstellers unter besonderer Beachtung der Lichtempfindlichkeit von Folsäure und sorgfältigem Pipettieren. Es wurden nur Eppendorf-Micropipetten benutzt, um optimale Ergebnisse zu erzielen.

Das Ablaufschema des Radioassay-Kit gibt Tabelle 1 wieder.

Röhrchen	Puff.	Stan- dard	Pat. Ser.	I ₁	Bdg. Prot.	Tra cer	I ₂	Akt. Kohle	I ₃	Z
1,2	+			+		+	+		+	+
3,4	+			+		+	+	+	+	+
Blank										
5,6	+			+	+	+	+	+	+	+
7-16	+	+		+	+	+	+	+	+	+
Standard										
17-223	+		+	+	+	+	+	+	+	+
Pat.- proben										

Tab. 1 Ablaufschema des Radioassay-Kit

(I₁ : Inkubation 45 Minuten bei 100°C)

(I₂ : Inkubation 45 Minuten bei Raumtemperatur)

(I₃ : Inkubation 10 Minuten bei Raumtemperatur)

(Z : Zentrifugieren 15 Minuten bei 1240 g)

(Die zeitliche Abfolge der einzelnen Arbeitsgänge ergibt sich durch Lesen von links nach rechts.)

Das Schema zeigt, daß im wesentlichen fünf Proben unterschiedlicher Zusammensetzung unterschieden werden müssen:

1. Röhrchen 1 und 2 enthalten nur den Arbeitspuffer und radioaktiv markierte Folsäure, den sogenannten Tracer. Die Höhe der Counts dieser Röhrchen ergibt den "Total Count" des Kits, der entsprechend dem Alter des Radioassay-Kits abnimmt.

2. Röhrchen 3 und 4 enthalten neben Arbeitspuffer und Tracer noch Aktivkohle, jedoch kein Bindungsprotein und stellen somit den "Blank" dieses Assays, da die ungebundene, radioaktiv markierte Folsäure von der Aktivkohle adsorbiert wird. Die Höhe der gemessenen Counts ist somit ein Qualitätsmaß für die Adsorptionsfähigkeit der Aktivkohle. Von allen gemessenen Counts müssen die Zählimpulse des Blanks abgezogen werden.

3. Röhrchen 5 und 6 enthalten, verglichen mit den Proben 3 und 4, zusätzlich noch das Folsäurebindungsprotein, so daß nach Abzentrifugieren der an Aktivkohle adsorbierten, ungebundenen, radioaktiv markierten Folsäure die Counts des Überstandes ein Maß für die Bindungskapazität des Folsäurebindungsproteins darstellen. Da in den Proben 5 und 6 die maximal mögliche Anzahl an Bindungsstellen von radioaktiv markierter Folsäure besetzt ist, werden die Counts dieser Proben als 100 %-Referenzpunkt für alle weiteren zu bestimmenden Proben benutzt, die neben markierter auch unmarkierte Folsäure enthalten.

4. Die Standardproben 7-16 enthalten im Gegensatz zu den Proben 5 und 6 unmarkierte Folsäure in steigender Konzentration. Folglich nimmt die Radioaktivität nach Zentrifugation und damit der Prozentsatz der von radioaktiv markierter Folsäure besetzten Proteinbindungsstellen, die sogenannte "Trace Binding" dieser Röhrchen mit steigender Folsäurekonzentration ab. Aus den Ergebnissen der in diesen Proben gemessenen Werte kann eine Standardkurve erstellt werden.

5. Anstelle der bekannten Mengen Folsäure der Standardproben enthalten die folgenden Röhrchen mit den Patientensera unbekannte Mengen an Folsäure. Die Radioaktivität dieser Röhrchen wird in Relation zu dem 100%-Referenzwert der Proben 5 und 6 errechnet, so daß der Prozentsatz "Trace Binding" angibt, wieviel Prozent der vorhandenen Folsäurebindungsstellen von radioaktiv markierter Folsäure besetzt sind. Mit Hilfe dieses Wertes kann der Folsäuregehalt der Probe direkt aus der Standardkurve abgelesen werden.

Die mit dem Schwarz/Mann Radioassay-Kit ermittelten Werte sind als ng Folsäure pro ml Serum bzw. $\mu\text{g/l}$ definiert.

III. Ergebnisse

3.1. Blutbilduntersuchungen

3.1.1. Normalwerte

Zur Beurteilung der Ergebnisse bezüglich einzelner Parameter des Blutbildes werden die Normalwerte nach W I N T - R O B E (138) und für die Leukozytenzahl die nach O R F A - N A K I S (92) zugrunde gelegt.

	Frauen	Männer	Einheit
Hämoglobin	7,5-9,9	8,7-11,1	mmol/l
	12-16	14-18	g/100 ml
Erythrozyten	4,2-5,5	4,4-6,0	$10^{12}/l$
	4,2-5,5	4,4-6,0	$10^6/mm^3$
MCV	80-94	80-94	fl
	80-94	80-94	μ^3
MCH	1,68-2,11	1,68-2,11	fmol Hb/Ery.
	27-34	27-34	pg Hb/Ery.
MCHC	19,5-22,3	19,5-22,3	mmol Hb/l Ery.
	31,5-36	31,5-36	g Hb/ 100ml Ery.
Hämatokrit	37-47	41-51	%
Leukozyten	4,3-10	4,3-10	$10^3/mm^3$
	4,3-10	4,3-10	$10^9/l$

Tab. 2 Normalwerte nach W I N T R O B E (138) und O R F A - N A K I S (92).

3.1.2. Ergebnisse

3.1.2.1. Hämoglobin

Ein erniedrigter Hämoglobingehalt findet sich bei 5,3 % aller Patienten, bei diesen 12 handelt es sich um 5 Männer und 7 Frauen. Der Anteil an der pathologischen Hb-Erniedrigung fällt mit 7,7 % bei den männlichen Patienten höher aus als

der der Frauen, die zu nur 4,4 % eine Hb-Ver minderung zeigen. 94,2 % aller Untersuchten - entsprechend 210 Patienten - zeigen einen normalen Hb-Genalt - bei den Frauen sind es 95 %, bei den Männern 92,3 %. Eine Patientin hat mit 10,7 mmol Hb/l bzw. 17,3 g/100 ml einen über die Norm erhöhten Hb-Wert.

Der Mittelwert des Hb-Gehaltes beläuft sich für die weiblichen Patienten auf 8,521 mmol/l bzw. 13,732 g/100ml, die Standardabweichung beträgt 0,620 mmol/l bzw. 0,999 g/100 ml, der Standardfehler des Mittelwertes (SEM) 0,050 mmol/l bzw. 0,080 g/100ml, der Median liegt bei 8,546 mmol/l bzw. 13,773 g/100ml bei einem Intervall von 6,205 mmol/l bzw. 10,00 g/100ml bis 10,735 mmol/l bzw. 17,30 g/100ml. Die Verteilungswerte für die männlichen Patienten lauten: Mittelwert 9,412 mmol/l bzw. 15,168 g/100ml, Standardabweichung 0,648 mmol/l bzw. 1,044 g/100ml, SEM 0,800 mmol/l bzw. 0,129 g/100ml, Median 9,471 mmol/l bzw. 15,236 g/100ml. Der niedrigste unter den männlichen Patienten gemessene Hb-Wert beträgt 7,136 mmol/l bzw. 11,5 g/100ml, der höchste Wert 10,611 mmol/l bzw. 17,1 g/100ml.

Die Ergebnisse der weiblichen Patienten sind in Abbildung 5, die der männlichen in Abb. 6 graphisch wiedergegeben.

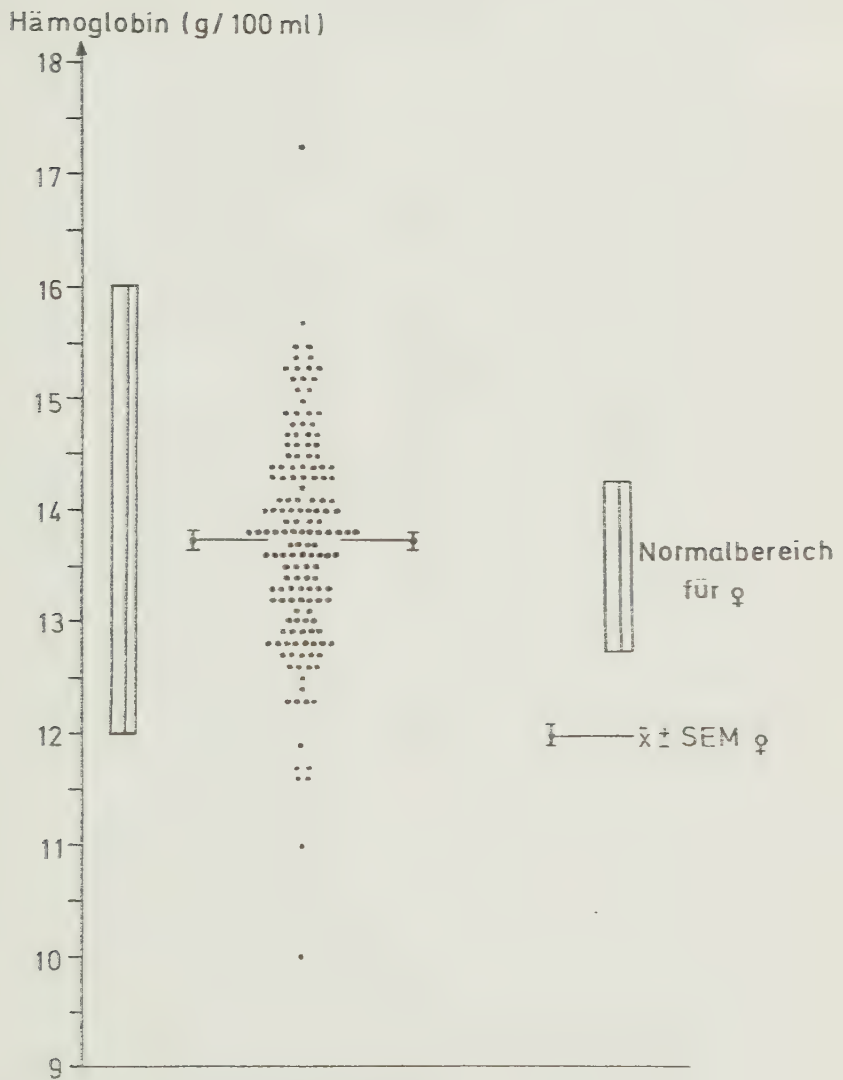


Abb. 5 Hämoglobinwerte der 158 weiblichen Patienten.

Hämoglobin (g/100 ml)

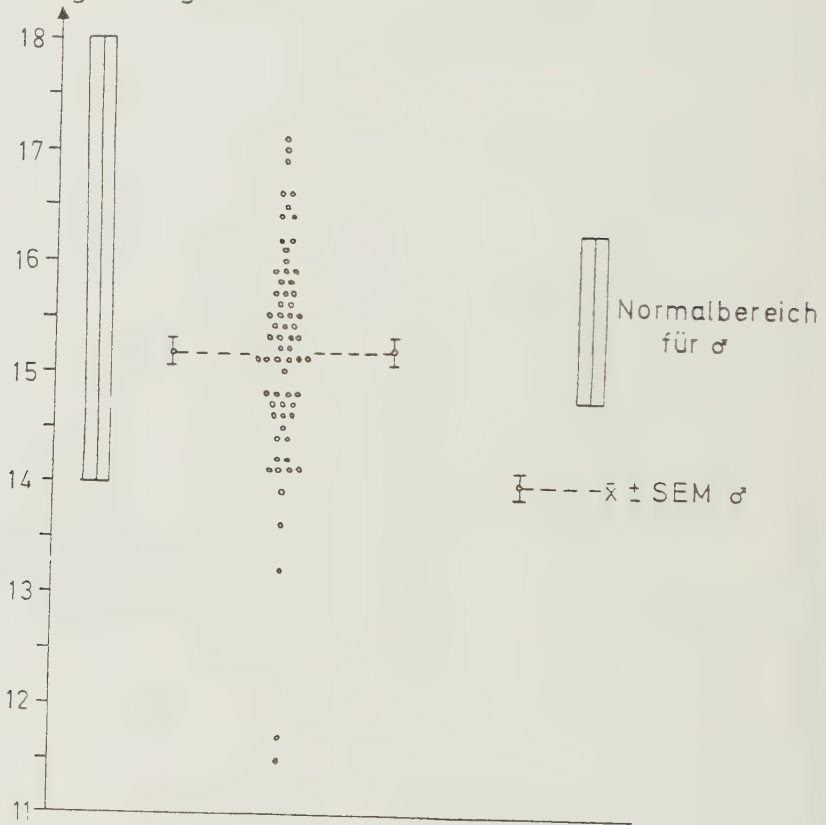


Abb. 6 Hämoglobinwerte der 65 männlichen Patienten

3.1.2.2. Erythrozyten

Bei 27 Patienten (12,1 %) liegt eine verminderte Erythrozytenzahl vor; 23 dieser anämischen Patienten sind Frauen (14,6 %), 4 sind Männer (6,2 %).

Im Normbereich befinden sich 195 Patienten (87,4 %) aller Untersuchten - bei den Frauen sind es 134 (84,8 %), bei den Männern 61 (93,8 %). Eine Patientin hat mit $5,88 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l die obere Grenze der Norm überschritten.

Ein den klassifizierten Werten entsprechendes Bild ergeben die statistischen Parameter der Erythrozytenverteilung: der Mittelwert bei den Frauen rangiert mit $4,525 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l ebenso wie der Median mit $4,530 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l im unteren Drittel des Normalbereiches, die Standardabweichung macht $0,403 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l aus, der SEM beträgt $0,080 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l, das Intervall reicht bei einem Minimum von $2,410 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l bis zum Maximum von $5,88 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l. Eine graphische Darstellung der Ergebnisse des weiblichen Kollektivs zeigt Abb. 7.

Bei den Männern liegen der Mittelwert von $4,965 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l und der Median von $4,953 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l in der unteren Hälfte des Normalbereiches. Die Standardabweichung beträgt $0,371 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l, der SEM $0,046 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l, die Grenzen der Erythrozytenverteilung liegen bei $4,11 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l und $5,820 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l.

Eine graphische Darstellung dieser Daten zeigt Abbildung 8.

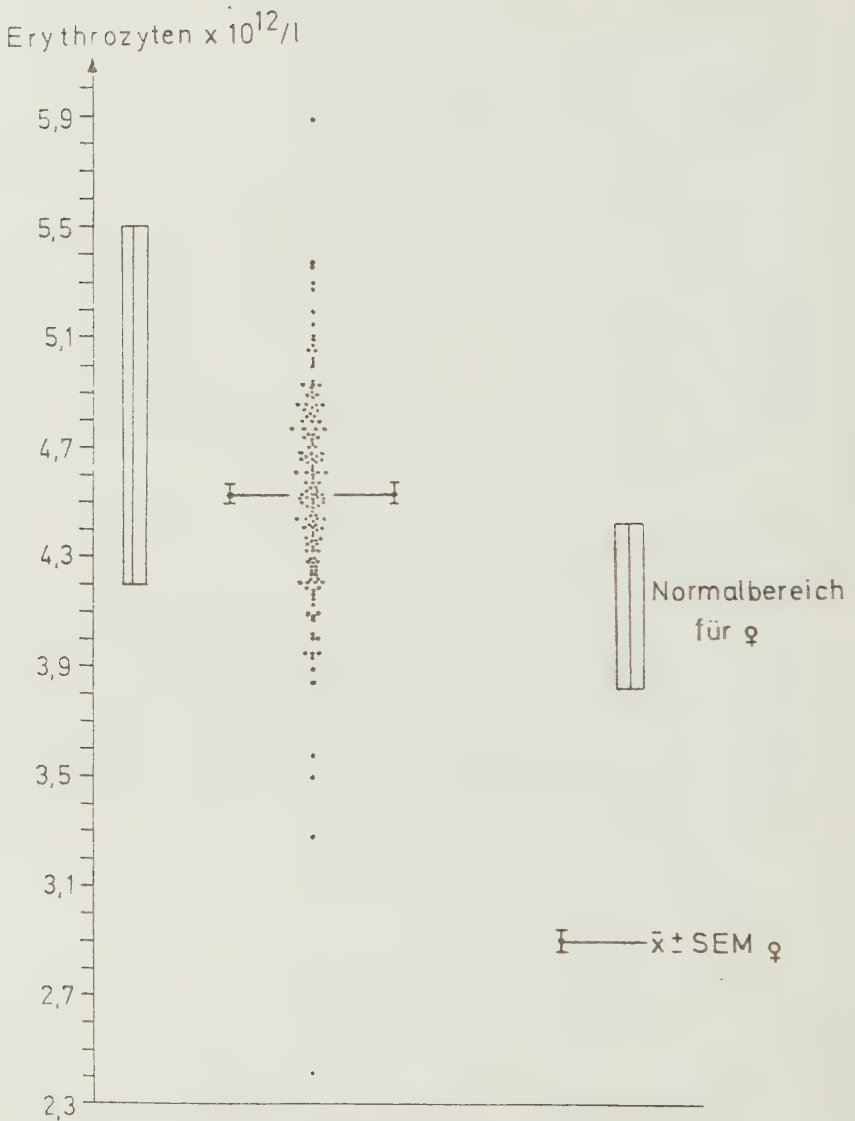


Abb. 7 Erythrozytenzahlen der 158 weiblichen Patienten

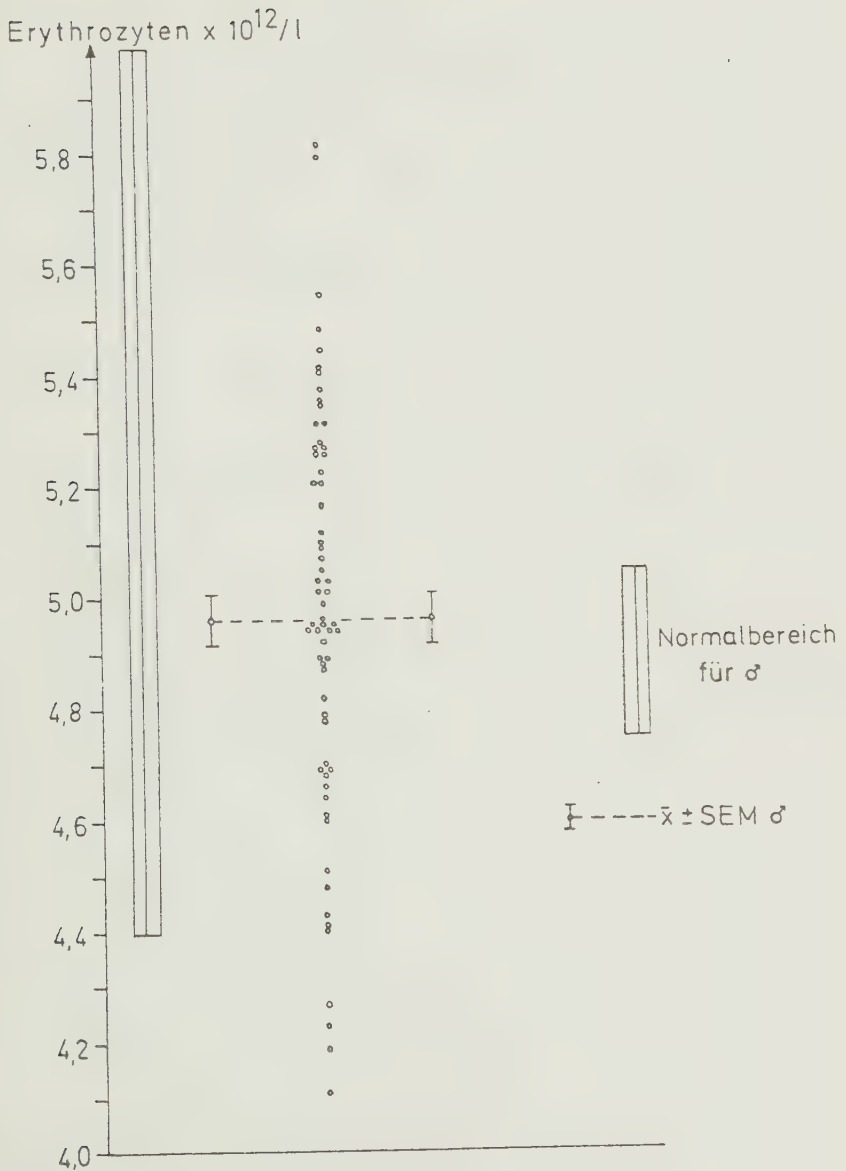


Abb. 8 Erythrozytenzahlen der 65 männlichen Patienten

3.1.2.3. Mittleres corpusculäres Volumen (MCV)

Die Mittelwerte für das MCV weichen mit 85,738 fl bzw. μ^3 für Männer und 86,095 fl bzw. μ^3 für Frauen nur unwesentlich voneinander ab; sie ergeben für das Gesamtkollektiv einen Mittelwert von 85,991 fl bzw. μ^3 bei einer Standardabweichung von 4,668 fl bzw. μ^3 , die bei den weiblichen Patienten mit 4,927 fl bzw. μ^3 höher ausfällt als bei den männlichen mit 3,993 fl bzw. μ^3 . Der SEM beträgt für das Gesamtkollektiv 0,313 fl bzw. μ^3 , für die Frauen 0,392 fl bzw. μ^3 und für die Männer 0,495 fl bzw. μ^3 . Die gemessenen Werte erstrecken sich über einen Bereich von 68 fl bzw. μ^3 bis 113 fl bzw. μ^3 .

Ein erniedrigtes MCV weisen 11 Patienten, also 4,9% aller Untersuchten auf. Davon sind 7 Frauen, was einem Anteil von 4,4 % am weiblichen Gesamtkollektiv entspricht; für die 4 männlichen Patienten errechnet sich ein Prozentsatz von 6,2 %. In den Normalbereich fallen 207 Patienten (92,8 %) des Gesamtkollektivs; ähnliche Prozentzahlen finden sich bei den Frauen, die zu 93,1 %, und den Männern, die zu 92,3 % ein normales MCV aufweisen. In 2,3 % der Fälle, bei den Frauen in 4 Fällen - entsprechend 2,5 % -, bei den Männern einmal, liegt ein erhöhtes MCV vor.

Diese Werte sind in Abbildung 9 graphisch dargestellt.

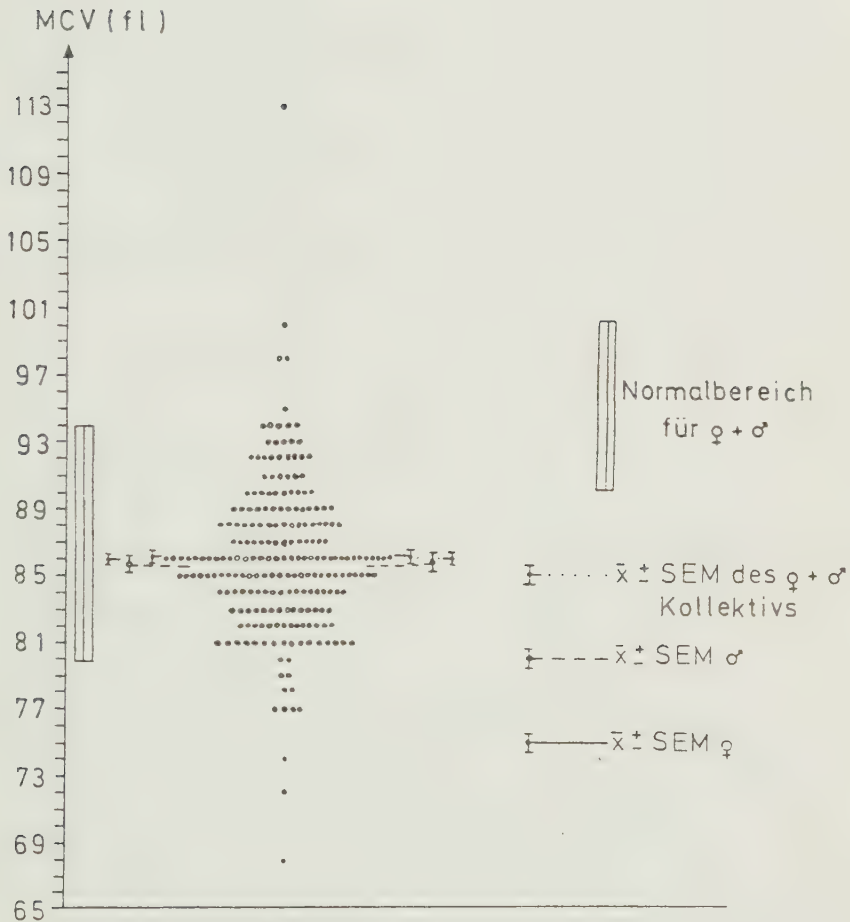


Abb. 9 Mittleres corpuskuläres Volumen (MCV) - Werte der 223 Patienten

3.1.2.4. Mittleres corpuskuläres Hämoglobin (MCH)

Der Mittelwert für das MCH beträgt für das Gesamtkollektiv 1,893 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 30,515 pg Hb/Erythrozyt, wobei der Wert für die weiblichen Patienten sich mit 1,891 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 30,483 pg Hb/Erythrozyt kaum von dem des männlichen Kollektivs in Höhe von 1,898 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 30,594 pg Hb/Erythrozyt unterscheidet. Die Standardabweichung für das Gesamtkollektiv beträgt 0,132 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 2,129 pg Hb/Erythrozyt, für die Frauen 0,146 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 2,358 pg Hb/Erythrozyt, für die Männer 0,089 fmol Hb/Erythrozyt. Der SEM beläuft sich auf 0,009 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 0,143 pg Hb/Erythrozyt - bei den weiblichen Patienten auf 0,012 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 0,188 pg Hb/Erythrozyt, bei den männlichen auf 0,011 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 0,179 pg Hb/Erythrozyt.

Der Median der Verteilung für das Gesamtkollektiv liegt mit 1,893 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 30,512 pg Hb/Erythrozyt fast genau in der Mitte des Normalbereiches; ebenso verhält es sich bei den Frauen mit 1,892 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 30,501 pg Hb/Erythrozyt und den Männern mit 1,894 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 30,518 pg Hb/Erythrozyt. Die Intervallgrenzen reichen von 1,241 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 20,000 pg Hb/Erythrozyt bis 3,012 fmol Hb/Erythrozyt bzw. 48,548 pg Hb/Erythrozyt.

Ein entsprechendes Ergebnis spiegeln die klassifizierten Werte wider. Im Normalbereich liegen die Werte von 212 Patienten (95,1 %) - bei den Frauen sind es 149 (94,3 %), bei den Männern 63 (97,0 %). Eine Erniedrigung findet sich bei 7 der 223 Patienten (3,1 %), davon betroffen sind 6 Frauen (3,6 %) und 1 Mann (1,5 %). Erhöhte Werte zeigen 4 Patienten (1,8 %) des Gesamtkollektivs, davon sind 3 Frauen (1,9 %), während ein Mann (1,5 %) einen erhöhten Wert aufweist.

Eine graphische Wiedergabe dieser Daten findet sich in Abbildung 10 .

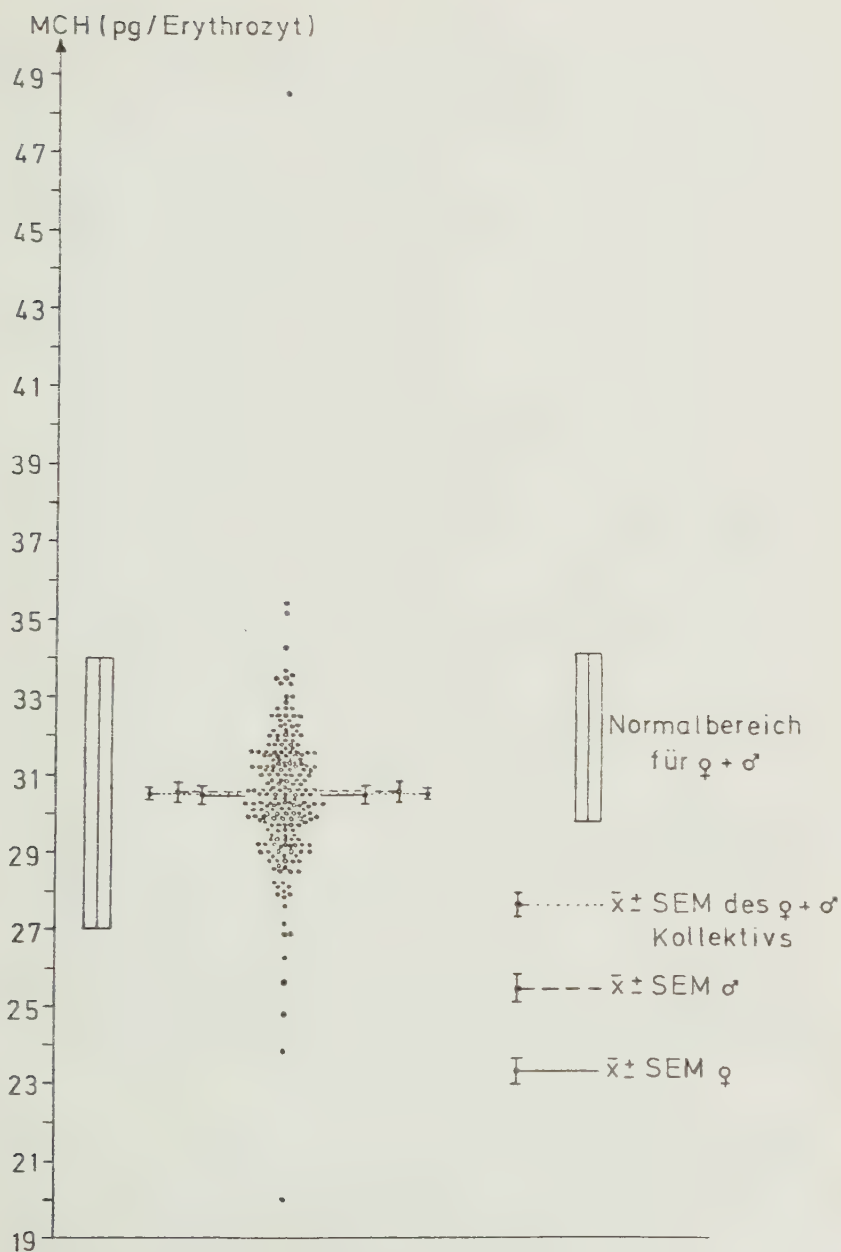


Abb. 10 Mittleres corpuskuläres Hämoglobin (MCH)

3.1.2.5. Mittlere corpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC)

Der Durchschnittswert für die MCHC liegt mit 22,009 mmol Hb/l Erythrozyten bzw. 35,469 g Hb/100ml Erythrozyten im oberen Drittel des Normalbereiches. Der Mittelwert für die Frauen fällt mit 21,953 mmol Hb/l Erythrozyten bzw. 35,380 g Hb/100 ml Erythrozyten ebenso hoch aus wie der für das männliche Kollektiv mit 22,144 mmol Hb/l Erythrozyten bzw. 35,687 g Hb/100ml Erythrozyten. Die Standardabweichung lautet für das Gesamtkollektiv 0,611 mmol Hb/l Erythrozyten bzw. 0,985 g Hb/100ml Erythrozyten, für die weiblichen Patienten 0,677 mmol Hb/l Erythrozyten bzw. 1,091 g Hb/100 ml Erythrozyten, für die untersuchten Männer 0,381 mmol Hb/l Erythrozyten bzw. 0,614 g Hb/100 ml Erythrozyten. Der SEM beläuft sich für alle Patienten auf 0,041 mmol Hb/l Erythrozyten bzw. 0,066 g Hb/100ml Erythrozyten, für die Frauen auf 0,054 mmol Hb/l Erythrozyten bzw. 0,087 g Hb/100ml Erythrozyten, für die Männer auf 0,047 mmol Hb/l Erythrozyten bzw. 0,076 g Hb/100ml Erythrozyten. Der Median liegt für die Ergebnisse aller Untersuchten bei 22,025 mmol Hb/l Erythrozyten bzw. 35,496 g Hb/100ml Erythrozyten, für die Frauen ergibt sich ein Wert von 21,979 mmol Hb/l Erythrozyten bzw. 35,422 g Hb/100 ml Erythrozyten, für die Männer ein Wert von 22,149 mmol Hb/l Erythrozyten.

Eine Erhöhung des MCHC findet sich dem hohen Mittelwert entsprechend bei 43 (19,2 %) aller Untersuchten - bei 24 Frauen (15,2 %) und bei 19 Männern (29,2 %). Einen erniedrigten Wert weist eine, einen normalen Wert weisen die restlichen 133 Frauen (84,2 %) auf. Bei den Männern findet sich kein erniedrigter Meßwert, die übrigen 46 (70,8 %) liegen im Normalbereich. Aus diesen Ergebnissen ermittelt sich eine normale MCHC für 179 Patienten (80,3 %) des Gesamtkollektivs.

3.1.2.6. Hämatokrit

Eine Erniedrigung des Hämatokrit findet sich bei 51 Patienten (22,9 %) des Gesamtkollektivs, in ungefähr gleich hohen Prozentsätzen tritt ein unter der Norm liegender Wert bei Männern und Frauen auf, nämlich zu 22,8 % bei den weiblichen Patienten - entsprechend 36 Patientinnen - und zu 23,1 % bei den männlichen - entsprechend 15 Patienten -. Dieser

relativ hohe Prozentsatz an erniedrigten Werten findet seine Erklärung in der Bestimmungsmethode des Coulter Counter Modell "S", denn bei dieser Methode werden die Hämatokritwerte errechnet als Produkt aus Erythrozytenzahl und MCV, so daß die bei den Ergebnissen der Microhämatokritmethode eingeschlossene 2-prozentige Plasma Beimischung nicht in die vom Coulter Counter Modell "S" errechneten Hämatokritwerte eingeht. Werden die um diesen 2-prozentigen Plasmaeinschluß korrigierten Normalwerte zugrunde gelegt, ergibt sich folgendes Bild: erniedrigte Hämatokritwerte finden sich bei 14 Patienten (6,3 %) des Gesamtkollektivs, bei 9 der weiblichen Patienten (5,7 %) und bei 5 der männlichen Patienten (7,7 %).

Einen erhöhten Wert weist eine Patientin mit 47,04 % auf - sie hatte ebenfalls erhöhte Hb-Werte und eine erhöhte Erythrozytenzahl-, bei Beurteilung nach dem um 2 % Plasmaeinschluß korrigierten Normwert zeigen 2 Frauen einen erhöhten Hämatokrit. Die übrigen 171 Patienten (76,7 %) des Gesamtkollektivs zeigen - beurteilt nach dem Normalbereich für die Microhämatokritmethode - Werte im Bereich der Norm, bei Zugrundelegung der um den 2 % Plasmaeinschluß korrigierten Normalwerte sind dies 207 Patienten (92,8 %). Der Hämatokritmittelwert für Frauen liegt mit 38,821 % im unteren Drittel des Normalbereiches; das gleiche gilt für das männliche Kollektiv bei einem Mittelwert von 42,498 %. Für die übrigen Verteilungsparameter ergeben sich bei den Frauen folgende Werte: Standardabweichung 2,700 %, SEM 0,215 %, Median 38,802 %, Minimalwert 27,233 %, Maximalwert 47,040 %; bei den Männern lauten sie: Standardabweichung 2,809 %, SEM 0,348 %, Median 42,656 %, Minimalwert 32,879 %, Maximalwert 47,724 %.

Abbildung 11 zeigt eine graphische Darstellung der Ergebnisse für die weiblichen Patienten, Abb. 12 für die männlichen Patienten.

Hämatokrit (%)

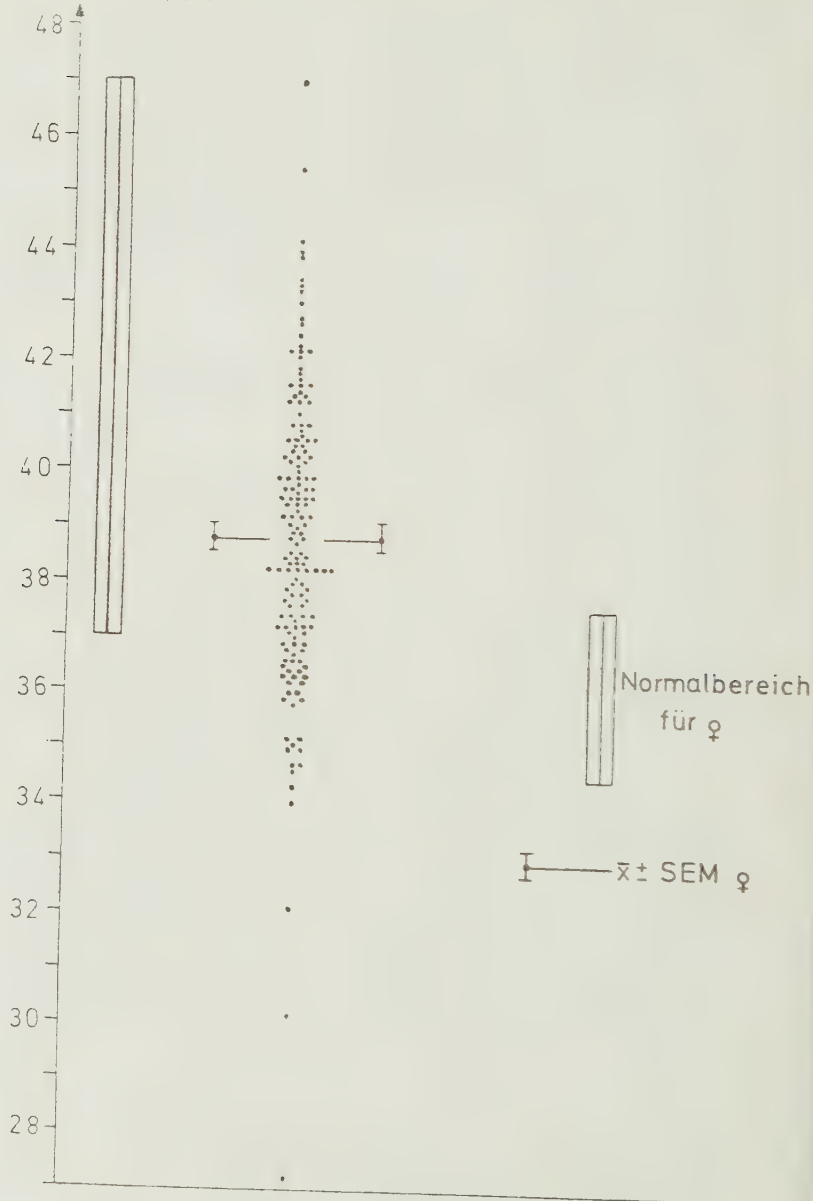


Abb. 11 Hämatokritwerte der 158 weiblichen Patienten

Hämatokrit (%)

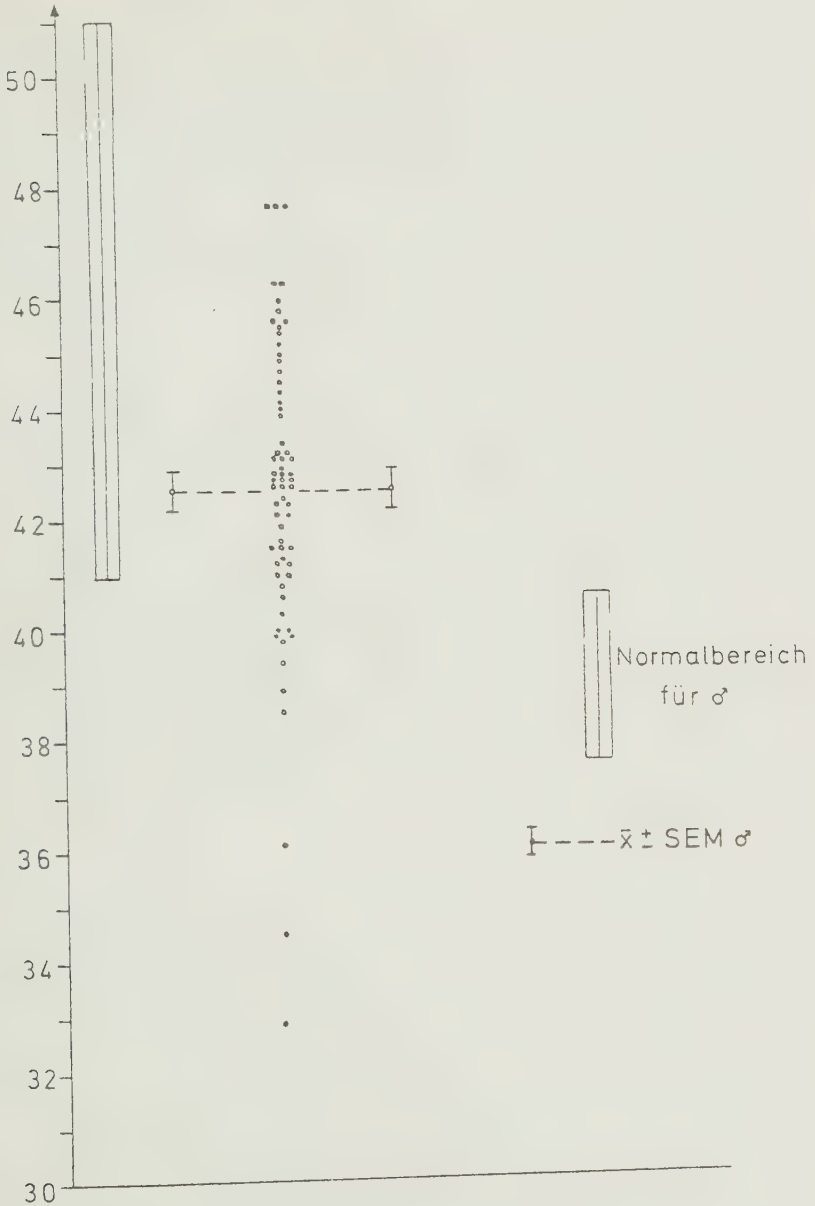


Abb. 12 Hämatokritwerte der 65 männlichen Patienten

3.1.2.7. Leukozyten

Der Mittelwert aller Patienten liegt für die Leukozytenzählung bei einem Intervall von $3,2-16,2 \times 10^9$ Zellen/l mit $6,645 \times 10^9$ Zellen/l im Normalbereich; die Standardabweichung beträgt $1,856 \times 10^9$ Leukozyten/l, der SEM $0,124 \times 10^9$ Leukozyten/l. Der Median befindet sich bei $6,287 \times 10^9$ Leukozyten/l.

Die Werte für die weiblichen Patienten beziffern sich für den Mittelwert auf $6,608 \times 10^9$ Leukozyten/l, für die Standardabweichung auf $1,895 \times 10^9$ Leukozyten/l, für den SEM auf $0,151 \times 10^9$ Leukozyten/l, der Median liegt bei $6,212 \times 10^9$ Leukozyten/l.

Die ermittelten Werte für die männlichen Patienten unterscheiden sich nicht wesentlich von denen der obigen Verteilungen: Mittelwert $6,735 \times 10^9$ Leukozyten/l, Standardabweichung $1,767 \times 10^9$ Leukozyten/l, SEM $0,219 \times 10^9$ Leukozyten/l, Median $6,475 \times 10^9$ Leukozyten/l.

Von 10 Patienten (4,5 % des Gesamtkollektivs) - ausnahmslos Frauen - wird der Normbereich unterschritten, 204 Patienten (91,5 % des Gesamtkollektivs) haben eine Leukozytenzahl im Normbereich, 9 aller untersuchten Patienten (4,0 %) weisen eine Leukozytose auf, bei den Männern ist dies einer (1,5 %), bei den Frauen sind es 8 (5,1 %).

Eine graphische Darstellung der Leukozytenzahlen findet sich in Abbildung 13 .

Leukozyten $\times 10^9/l$

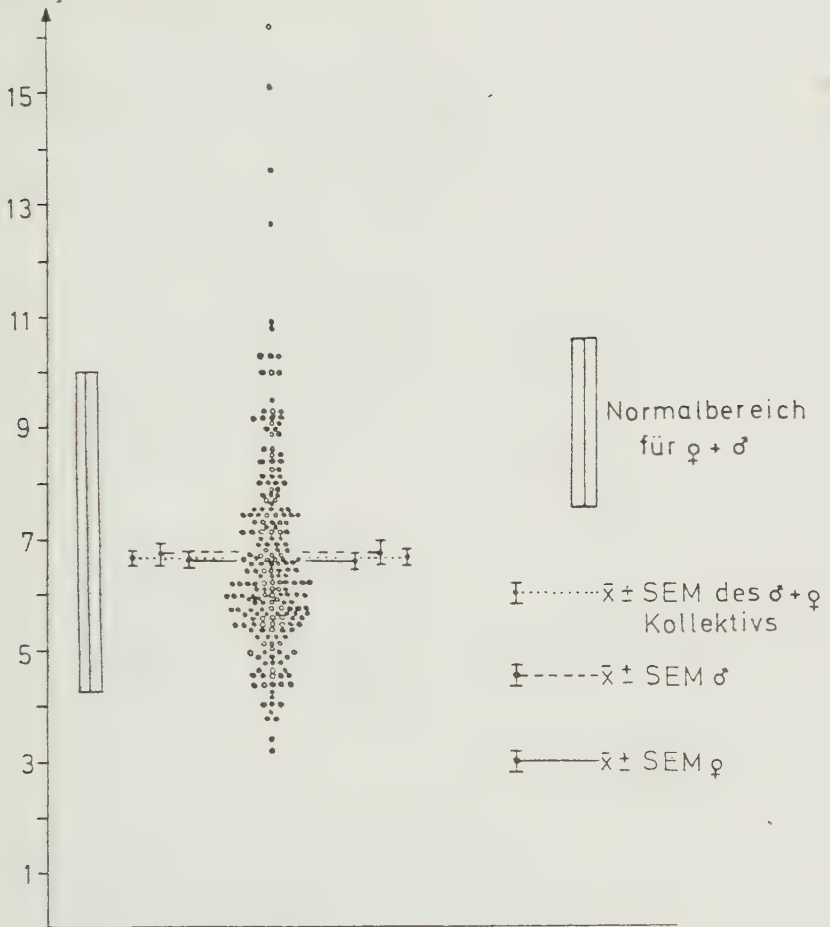


Abb. 13 Leukozytenzahlen der 223 Patienten

3.2. Differentialblutbild

3.2.1. Normalwerte

Zur Beurteilung der Ergebnisse werden die von O R F A N A - K I S et al. (92) erstellten und von W I N T R O B E (138) übernommenen Normalwerte zugrunde gelegt.

Stabkernige	0-22/100 Leukozyten
Segmentkernige	25-62/100 Leukozyten
Eosinophile	0-8 /100 Leukozyten
Basophile	0-2 /100 Leukozyten
Lymphozyten	20-53/100 Leukozyten
Monozyten	2-12/100 Leukozyten

Tab. 3 Normalwerte nach O R F A N A K I S et al. (92)

3.2.2. Ergebnisse

3.2.2.1. Stabkernige

Keiner der Patienten zeigt eine Erhöhung der Stabkernigen, alle Werte liegen im Normbereich. Der Mittelwert beläuft sich auf 2,489 Stabkernige/100 Leukozyten.

3.2.2.2. Segmentkernige

Der Mittelwert für alle Patienten liegt mit 57,830 Segmentkernigen/100 Leukozyten im oberen Drittel des Normbereiches mit einem Intervall mit der Minimalgrenze von 25 Segmentkernigen/100 Leukozyten und einem Maximum von 84 Segmentkernigen/100 Leukozyten. Ein zu dieser Verteilung kongruentes Bild drückt sich in den klassifizierten Werten aus. Bei 48 Patienten (21,5 %) zeigt sich eine Erhöhung der Werte, bei den übrigen 175 Patienten (78,5 %) liegen die Werte im Normbereich.

3.2.2.3. Eosinophile

Der obere Grenzwert des Normbereiches wird in einem der untersuchten Fälle mit 10 % eosinophiler Granulozyten überschritten, alle anderen Patienten weisen Befunde im Normbereich auf. Der Mittelwert von 1,987 Eosinophilen/100 Leuko-

zyten liegt im unteren Drittel des als Norm definierten Intervalles.

3.2.2.4. Basophile

Eine Erhöhung der Basophilenzahl läßt sich bei keinem der Patienten nachweisen. Der Mittelwert der Basophilenverteilung beträgt 0,242 Basophile/100 Leukozyten.

3.2.2.5. Lymphozyten

Bei 3 Patienten liegt eine erniedrigte Lymphozytenzahl vor, bei ebenso vielen Patienten wird ein erhöhter Wert festgestellt. Die restlichen 217 der Untersuchten (97,4 %) weisen Werte im Normbereich auf. Der Mittelwert liegt bei 33,570 Lymphozyten/100 Leukozyten, wobei das Intervall der Verteilung von 12 bis 65 Lymphozyten/100 Leukozyten reicht.

3.2.2.6. Monozyten

Eine erniedrigte Monozytenzahl weisen 21 Patienten (9,4 %) auf, eine Erhöhung kann in keinem Fall beobachtet werden. Der Mittelwert liegt mit 3,839 Monozyten/100 Leukozyten im unteren Normalbereich.

3.3. Segmentationsgrad der neutrophilen Segmentkernigen

3.3.1. Normalwerte

Als Normwert wird die Definition von CHANARIN (19/20) zur Beurteilung der Ergebnisse herangezogen, die für die Hypersegmentierten einen Bereich von 0-3 fünfsegmentkernigen Zellen/100 segmentierte neutrophile Granulozyten als normal angibt. Ein Blutbild mit mehr als diesen 3 % fünfsegmentkernigen Neutrophilen ist als hypersegmentiert zu bezeichnen; ebenso charakterisiert das Auftreten von nur einem sechssegmentkernigen Neutrophilen unter 100 neutrophilen Segmentkernigen eine Hypersegmentation des Blutbildes (138).

3.3.2. Ergebnisse

Bei 78,5 % aller ausgezählten Blutbilder - das sind 175 von 223 - ist die Segmentation normal; bei 125 der 158 weib-

lichen Patienten (79,1%) finden sich normale Befunde, von den 65 männlichen Patienten zeigen 50 (76,9 %) Normalbefunde. Die Kriterien der Hypersegmentation des Blutbildes sind von 21,5 % - entsprechend 48 von 223 Patienten - erfüllt, bei den weiblichen Patienten sind es 33 (20,9 %), bei den männlichen Patienten 15 (23,1 %).

3.4. Serumeisen

3.4.1. Normalwerte

Zur Auswertung der jeweils ermittelten Serumeisenkonzentration werden folgende Normalwerte zugrunde gelegt:

Frauen:	11,10 $\mu\text{mol/l}$	bzw.	62 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ bis
	30,98 $\mu\text{mol/l}$	bzw.	173 $\mu\text{g}/100\text{ml}$
Männer:	12,71 $\mu\text{mol/l}$	bzw.	71 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ bis
	35,98 $\mu\text{mol/l}$	bzw.	201 $\mu\text{g}/100\text{ml}$

3.4.2. Ergebnisse

Eine Erniedrigung des Serumeisenspiegels zeigen 5 Männer (7,7 %) und 13 Frauen (8,2 %). Im Normalbereich liegen 59 Männer (90,8 %) und 141 Frauen (89,2 %), während ein männlicher Patient einen erhöhten Wert aufweist, gegenüber 4 weiblichen, deren Serumeisenspiegel die obere Grenze der Norm überschritten haben.

Der Mittelwert der Serumeisenkonzentration liegt für die untersuchten Frauen bei 19,562 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 109,285 $\mu\text{g}/100\text{ml}$, die Standardabweichung bei 5,976 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 33,385 $\mu\text{g}/100\text{ml}$, der SEM bei 0,475 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 2,656 $\mu\text{g}/100\text{ml}$, der Median bei 19,362 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 108,167 $\mu\text{g}/100\text{ml}$. Der niedrigste bei den weiblichen Patienten gemessene Wert beträgt 4,5 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 28 $\mu\text{g}/100\text{ml}$, der höchste 38,1 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 213 $\mu\text{g}/100\text{ml}$. Die Verteilungsparameter für das männliche Kollektiv lauten: Mittelwert: 22,507 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 125,738 $\mu\text{g}/100\text{ml}$, Standardabweichung: 7,430 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 41,509 $\mu\text{g}/100\text{ml}$, SEM 0,922 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 5,149 $\mu\text{g}/100\text{ml}$, Median 22,375 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 125,000 $\mu\text{g}/100\text{ml}$. Die Intervallgrenzen liegen bei 7,7 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 43 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ und 49,2 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 275 $\mu\text{g}/100\text{ml}$.

3.5. Serumfolsäure

3.5.1. Normalwerte

An einem Kollektiv gesunder Kontrollpersonen wurde ein Serumfolsäurewert von 4-20 µg/l bzw. 4-20 ng/ml als normal ermittelt (49). Dabei sind folgende Unterscheidungen möglich:

Interpretation	Serumfolsäure in µg/l bzw. ng/ml
sicher erniedrigt	< 3
auf Mangel verdächtig	3-4
normal	4-20
erhöht	> 20

Tab. 4 Klassifizierungen der Serumfolsäurekonzentrationen

3.5.2. Ergebnisse

Mit dem Folsäure-Radioassay ergeben sich für die beiden Standards - bei 223 Patienten werden zwei Radioassay-Kits benötigt - die in Tabelle 5 und 6 folgenden Werte:

Standard Nr. 1

Probe Nr.	Counts pro Min.	korr. Counts pro Min.	Mittel- wert	% Trace- Binding	Folsäure µg/l bzw. ng/ml
1	11444	11008	10960	-	-
2	11348	10912			
3	437	-	436	-	-
4	435				
5	7215	6779	6745	100	-
6	7147	6711			
7	5619	5183	5158	76,47	1
8	5569	5133			
9	4697	4261	4238	62,83	2
10	4651	4215			
11	3246	2810	2790	41,36	4
12	3206	2770			
13	1987	1551	1539	22,81	10
14	1963	1527			
15	1253	817	825	12,23	20
16	1269	833			

Tab. 5 Wertetabelle für den Folsäurestandard 1

Standard Nr. 2

Probe Nr.	Counts pro Min.	korr. Counts pro.Min.	Mittel- wert	% Trace Binding	Folsäure µg/l bzw. ng/ml
1	12420	11881	11934	-	-
2	12526	11987			
3	554	-	539	-	-
4	524				
5	7766	7227	7197	100	-
6	7706	7167			
7	6138	5599	5639	78,35	1
8	6218	5679			
9	4985	4446	4513	62,70	2
10	5119	4580			
11	3958	3419	3395	47,17	4
12	3910	3371			
13	2313	1774	1792,5	24,96	10
14	2350	1811			
15	1680	1141	1092	15,17	20
16	1582	1043			

Tab. 6 Wertetabelle für den Folsäurestandard 2

Anhand dieser Werte wurden die Standardkurven für den Folsäurestandard 1 und 2 (Abbildung 14 und 15) erstellt.

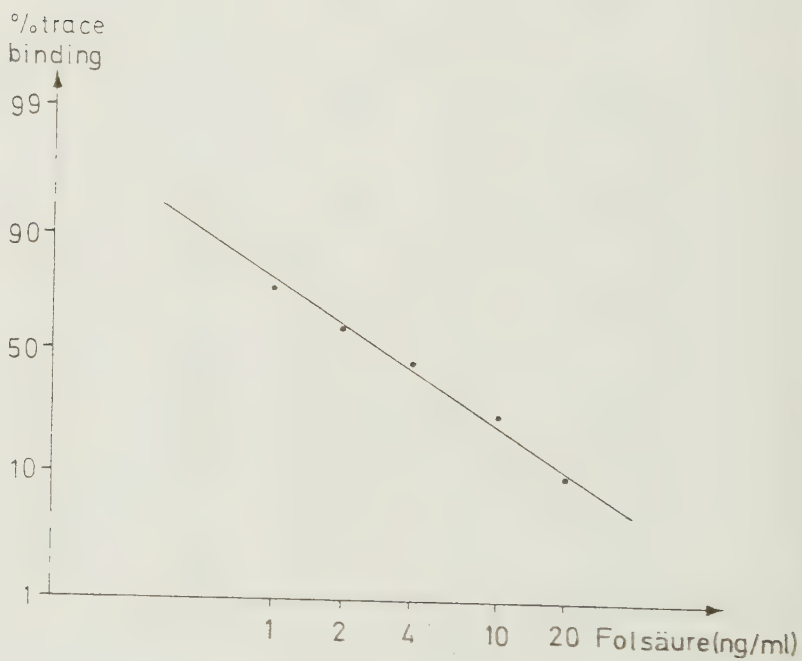


Abb. 14 Standardkurve für den Folsäurestandard 1 (LOGIT - LOG)

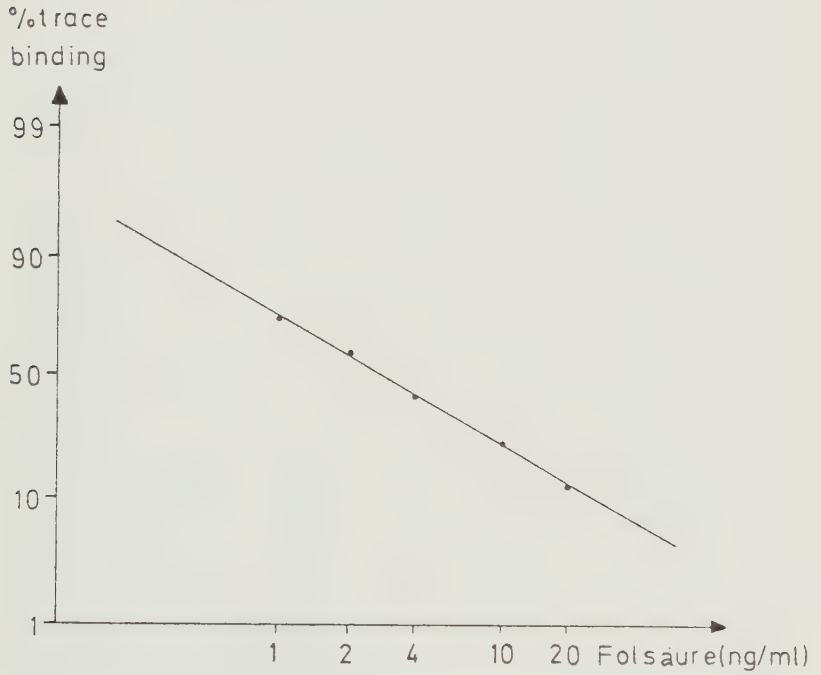


Abb. 15 Standardkurve für den Folsäurestandard 2 (LOGIT - LOG)

Die Werte liegen in den Grenzen von 0,2-23 $\mu\text{g/l}$ bzw. ng/ml mit einem Mittelwert von 3,143 $\mu\text{g/l}$, einer Standardabweichung von 2,068 $\mu\text{g/l}$ und einem Standardfehler des Mittelwerts (SEM) von 0,139 $\mu\text{g/l}$. Der Median dieser Verteilung beträgt 2,843 $\mu\text{g/l}$.

Nach Geschlechtern aufgetrennt ergeben sich folgende Werte: für Frauen liegt der Mittelwert bei 3,217 $\mu\text{g/l}$, die Standardabweichung beträgt 2,272 $\mu\text{g/l}$, der SEM beläuft sich auf 0,181 $\mu\text{g/l}$, der Median liegt bei 2,890 $\mu\text{g/l}$. Bei den Männern beträgt der Mittelwert 2,965 $\mu\text{g/l}$, die Standardabweichung 1,459 $\mu\text{g/l}$, der SEM 0,181 $\mu\text{g/l}$, der Median 2,733 $\mu\text{g/l}$.

Beide Mittelwerte liegen weit jenseits der unteren Normgrenze von 4 $\mu\text{g/l}$.

Eine Übersicht der ermittelten Serumfolsäurekonzentrationen gibt Abbildung 16.

Bei 53,4 % aller Patienten - das sind 119 von 223 - liegt die Folsäurekonzentration im Bereich "sicher erniedrigt", also unter 3 $\mu\text{g/l}$, bei 22,4 % des Patientenkollektivs - das sind 50 von 223 - befindet sich die Folsäurekonzentration im Bereich "auf Mangel verdächtig", also zwischen 3 und 4 $\mu\text{g/l}$, lediglich 23,8 % - das sind 53 von 223 - weisen eine normale Folsäurekonzentration auf, eine Patientin hat mit 23 $\mu\text{g/l}$ einen erhöhten Folsäurespiegel.

Bei 82 Frauen (51,8 %) fallen die ermittelten Werte in den Folsäurebereich unter 3 $\mu\text{g/l}$, bei 38 Frauen (24,1 %) in den Bereich 3 - 4 $\mu\text{g/l}$, bei 37 Frauen (23,5 %) in den Normalbereich, eine Patientin zeigt eine erhöhte Serumfolsäurekonzentration von 23 $\mu\text{g/l}$.

Ähnliche Zahlen lassen sich bei den Männern eruieren: 37 (56,9 %) haben Serumfolsäurespiegel unter 3 $\mu\text{g/l}$, 12 (18,5 %) zwischen 3 und 4 $\mu\text{g/l}$, 16 (24,6 %) weisen Werte im Normalbereich auf.

Eine zusammenfassende Übersicht vermittelt Tabelle 7.

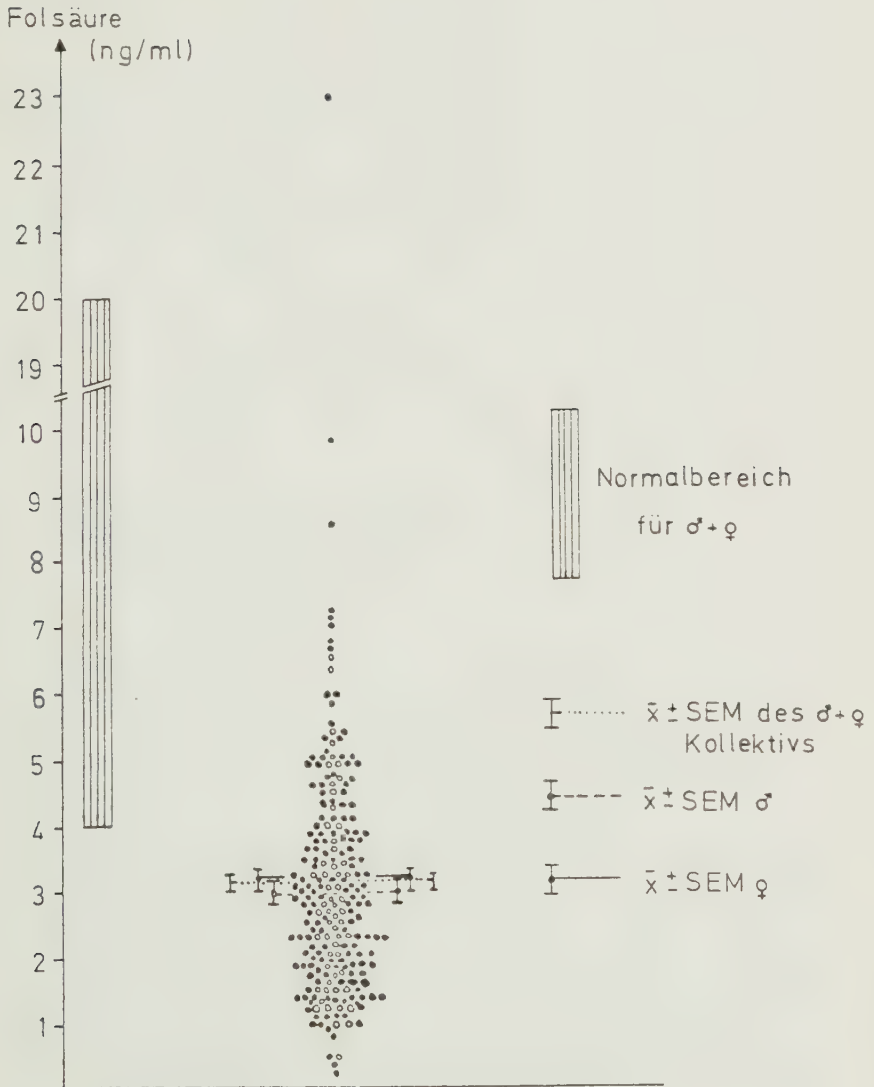


Abb. 16 Ergebnisse der Serumfolsäurebestimmungen der 223 Patienten

	weibl.		männl.		insgesamt	
	rel. %	abs.	rel. %	abs.	rel. %	abs.
<3 ($\mu\text{g/l}$)	51,8	82	56,9	37	53,4	119
3-4 ($\mu\text{g/l}$)	24,1	38	18,5	12	22,4	50
4-20 ($\mu\text{g/l}$)	23,5	37	24,6	16	23,8	53
>20 ($\mu\text{g/l}$)	0,6	1	0,0	0	0,4	1
Mittelwert	3,217		2,965		3,143	
Standardabweichung	2,272		1,459		2,068	
Standardfehler des Mittelwertes (SEM)	0,181		0,181		0,139	
Median	2,890		2,733		2,843	
	weibl.		männl.		insgesamt	

Tab. 7 Zusammenfassung der bezüglich der Serumfolsäurekonzentration ($\mu\text{g/l}$) ermittelten statistischen Werte

3.6. Anämie

Eine Verminderung der Hämoglobinkonzentration oder der Erythrozytenzahl unter die Norm wird als Anämie bezeichnet (138), eine Erniedrigung des Hämatokrit auf subnormale Werte, ebenfalls ein Klassifizierungsmerkmal eines anämischen Blutbildes (138), soll bei den in der vorliegenden Studie mit dem Coulter Counter Modell "S" durchgeführten Blutbilduntersuchungen nicht als Anämiekriterium dienen, da zum einen die Erythrozytenzahlen, die nach dem Coulter-Prinzip bestimmt werden, eine sehr gute Reproduzierbarkeit aufweisen im Gegensatz zur mikroskopischen Erythrozytenzählung nach dem Zählkammerverfahren, zum anderen der nach dem Coulter Counter Modell "S" - Verfahren ermittelte Hämatokritwert als Produkt aus Erythrozytenzahl und mittlerem corpuskulärem Volumen (MCV) nur die Erythrozytenzahl in Abhängigkeit vom MCV widerspiegelt.

Eine weitere Unterteilung erfolgt mittels des mittleren corpuskulären Hämoglobin (MCH). Man unterscheidet die hypochrome Anämie mit erniedrigtem MCH, die normochrome Anämie mit normalem MCH und die hyperchrome Anämie, deren Charakteristikum in einer Erhöhung des MCH besteht.

Bei den in dieser Studie untersuchten Patienten wird eine Anämie mit Erniedrigung des Hämoglobingehaltes oder der Erythrozytenzahl bzw. erniedrigten Werten für beide Parameter in 32 Fällen beobachtet, was einer Häufigkeit von 14,3 % entspricht. Bei 5 Patienten handelt es sich um Männer, woraus sich für das männliche Kollektiv eine Anämiehäufigkeit von 7,7 % errechnet, ein Prozentsatz, der sich genau mit der Quote der Hämoglobinerniedrigung deckt. Bei den Frauen findet sich in 27 Fällen (17,1 %) eine Anämie, wobei die Erniedrigung der Erythrozytenzahl bei 14,6 % gegenüber einer unter der Norm liegender Hämoglobinkonzentration bei 4,4 % das Kriterium der Anämie darstellt.

Die weitere Unterteilung ergibt für alle Patienten 4 hypochrome Anämien, 25 normochrome Anämien und 3 Fälle von hyperchromer Anämie, ein männlicher Patient weist mit $4,41 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l und erhöhtem MCH und MCV gerade noch keine hyperchrome Anämie auf. Alle beobachteten hypochromen Anämien beruhen auf einem Eisenmangel, gehen mit Mikrozyten einher und zeigen somit das klassische Bild einer sideropenischen Anämie. Ein ebenso klassisches Bild weisen die hyperchromen Anämien auf, die alle in Verbindung mit Makrozyten auftreten und sich auf ausgeprägten Folsäuremangel - die Serumfolsäurespiegel belaufen sich ausnahmslos auf unter $3 \mu\text{g/l}$ bzw. ng/ml - zurückführen lassen; bei 2 Patienten ist die hyperchrome Anämie mit Hypersegmentation der Neutrophilen vergesellschaftet.

Tabelle 8 zeigt eine Zusammenfassung dieser Ergebnisse.

	MCH ↓	MCH —	MCH ↑
MCV ↓	4		
MCV —		24	
MCV ↑		1	3

Tab. 8 Darstellung der Anämien in Abhängigkeit von MCH und MCV

3.7. Serumfolsäure in Beziehung zu anderen Parametern

3.7.1. Serumfolsäure, Anämie und Normämie

Die Verteilung von an- und normämischen Blutbildern innerhalb der einzelnen Serumfolsäureklassen ergibt folgendes Bild:

Die niedrigste Klasse umfaßt alle 3 hyperchromen, 17 normochrome - davon 3 mit gleichzeitigem Eisenmangel - und 2 hypochrome Anämien, die die Merkmale einer klassischen Eisenmangelanämie aufweisen, sowie 97 normämische Blutbilder, d.h. 18,5 % der untersuchten, im sicheren Folsäuremangel einzu-stufenden Patienten weisen gleichzeitig eine Anämie auf.

Die beiden nächsthöheren Folsäureklassen umfassen mit 6 % Anämiehäufigkeit in der Kategorie "auf Mangel verdächtig" und mit 13,0 % Anämiehäufigkeit im Bereich normaler Folsäurekonzentration jeweils folgende Anzahl an Patienten:

Im Bereich 3-4 µg/l befinden sich 2 Patienten mit normochromer Anämie ohne Eisenmangel, 1 Patient mit hypochromer Eisenmangelanämie sowie 47 Patienten mit normämischen Blutbildern.

In die Klasse "normale Serumfolsäurekonzentration" fallen 6 Patienten mit normochromer Anämie - einer weist gleichzeitig Eisenmangel auf -, 1 Patient mit hypochromer Eisenmangelanämie und 47 Patienten mit normämischen Blutbildern.

Die eine Patientin mit leicht erhöhter Folsäurekonzentration zeigt ein unauffälliges Blutbild.

Auf die Gesamtzahl von 32 Anämien bezogen ergibt sich somit eine Verteilung, bei der 68,8 % der Anämien in der Folsäureklasse unter 3 µg/l liegen, 9,3 % in der Folsäureklasse 3 - 4 µg/l und 21,9 % im Bereich normaler Serumfolsäurekonzentration.

Eine Übersicht hierüber gibt Tabelle 9.

Folsäure- konzentra- tion (µg/l)	<3	3-4	>4
Blutbild			
hypochrome Anämie	1	0	0
normochrome Anämie	10	2	6
hyperchrome Anämie	1	1	1
Normämie	97	47	47

Tab. 9 Zuordnung von an- und normämischen Blutbildern zu Serumfolsäurekonzentrationen

3.7.2. Serumfolsäure und Erythrozytenzahl

Korreliert man die Serumfolsäurekonzentration mit der Erythrozytenzahl, was aufgrund der unterschiedlichen Normbereiche für Frauen und Männer getrennt durchzuführen ist, so ergibt sich für die 158 weiblichen Patienten bei einem Korrelationskoeffizienten von 0,132 Signifikanz erst bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 9,88 %, so daß von einer signifikanten Korrelation, die eine Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5 % aufweisen müßte, nicht gesprochen werden kann.

Eine graphische Darstellung findet sich in Abbildung 17.

Erythrozyten ($10^{12}/l$)

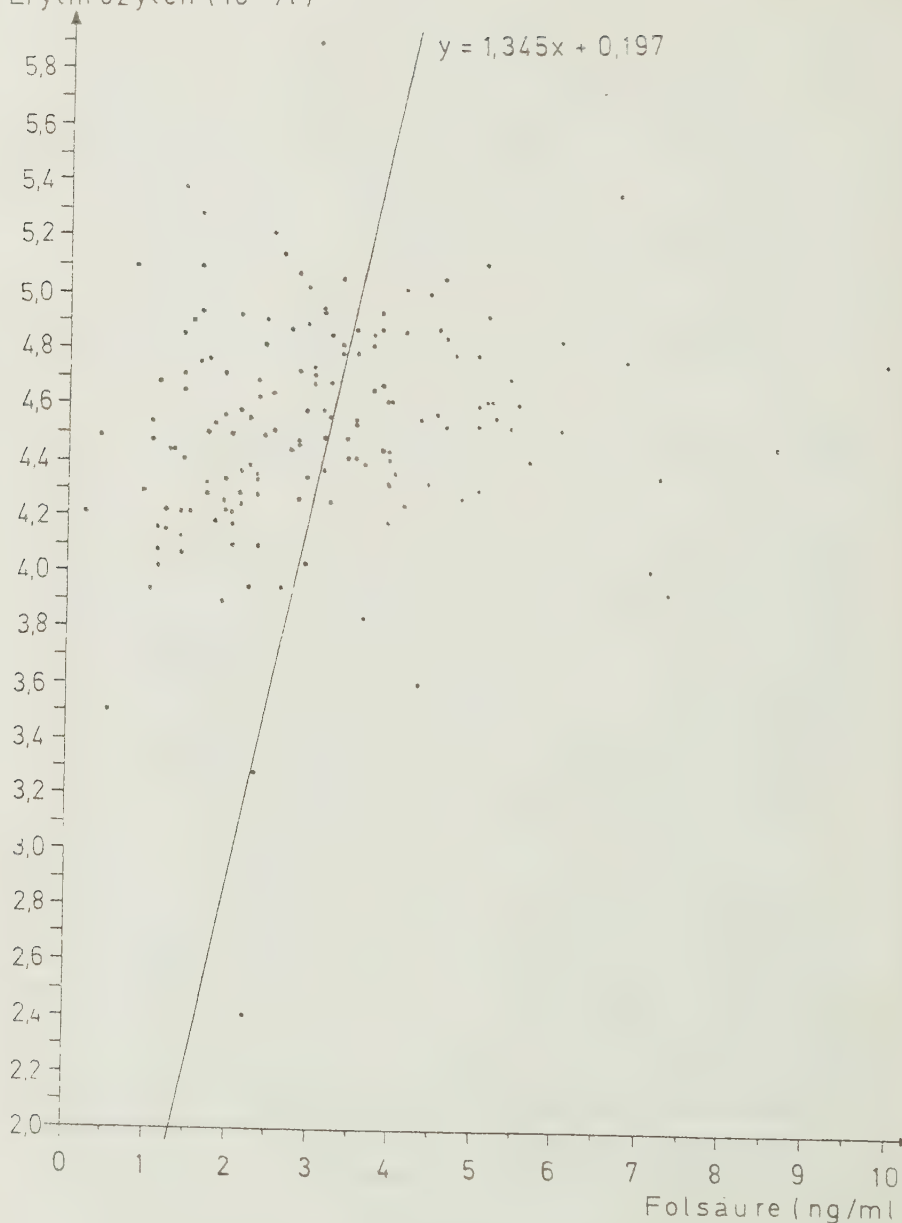


Abb. 17 Regressionsgerade für die Korrelation von Serumfolsäurekonzentration und Erythrozytenzahl der 152 weiblichen Patienten

Für die 65 männlichen Patienten bedeutet der Korrelationskoeffizient für diesen Zusammenhang von 0,130 Signifikanz erst bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 30,10 %, also weit oberhalb der 5 %-Grenze, so daß auch für das männliche Kollektiv kein signifikanter Zusammenhang zwischen diesen beiden Größen nachgewiesen werden kann.

Graphisch dargestellt finden sich diese Ergebnisse in Abbildung 18.

3.7.3. Serumfolsäure und mittleres corpuskuläres Hämoglobin

Ein Zusammenhang zwischen der Serumfolsäurekonzentration der 223 untersuchten Patienten und dem MCH konnte statistisch nicht gesichert werden, denn erst bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 15,65 % ergibt sich für den Korrelationskoeffizienten $r = -0,095$ Signifikanz; als maximale Irrtumswahrscheinlichkeit zur Sicherung eines signifikanten Zusammennangs sind jedoch nur 5 % zulässig.

Eine graphische Darstellung dieser Korrelation zeigt Abbildung 19.

3.7.4. Serumfolsäure und mittleres corpuskuläres Volumen

Korreliert man die Serumfolsäurekonzentration aller 223 Patienten mit dem MCV, ergibt sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang dieser beiden Meßgrößen für den Korrelationskoeffizienten $r = -0,149$ bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 2,5 %. Das MCV nimmt also mit fallender Serumfolsäurekonzentration zu.

Eine graphische Wiedergabe dieser Korrelation findet sich in Abbildung 20.

Erythrozyten ($10^{12}/l$)

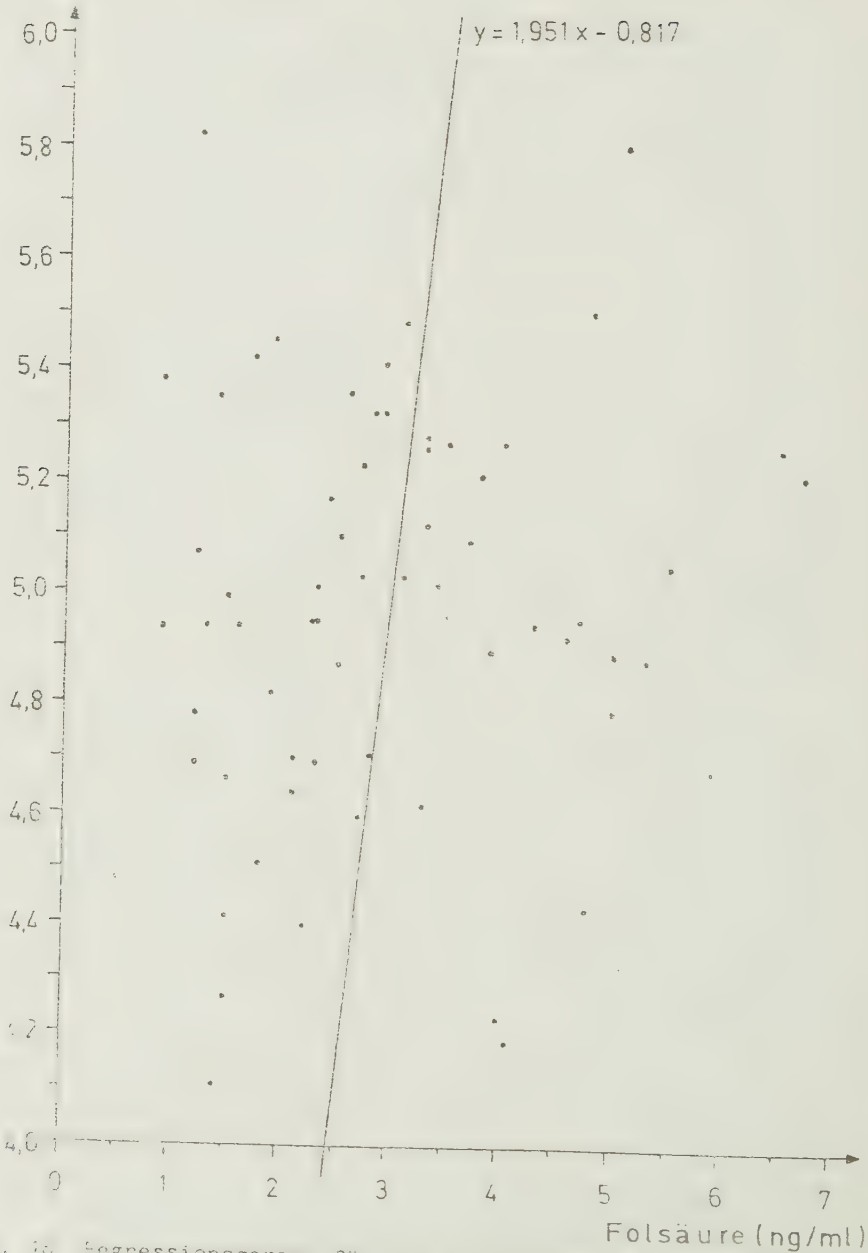


Abb. 10. Regressionsgerade für die Korrelation von Serumfolsäurekonzentration und Erythrozytenzahl der 65 männlichen Patienten

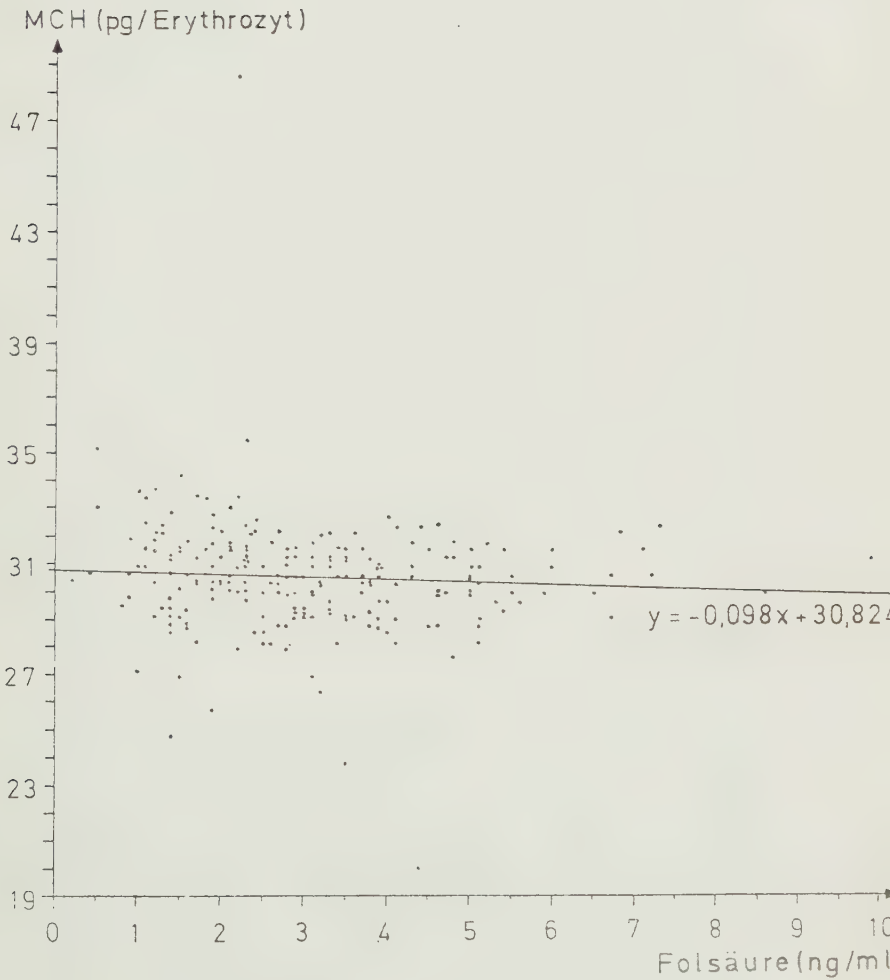


Abb. 19 Regressionsgerade für die Korrelation von Serumfolsäurekonzentration und MCH der 223 Patienten

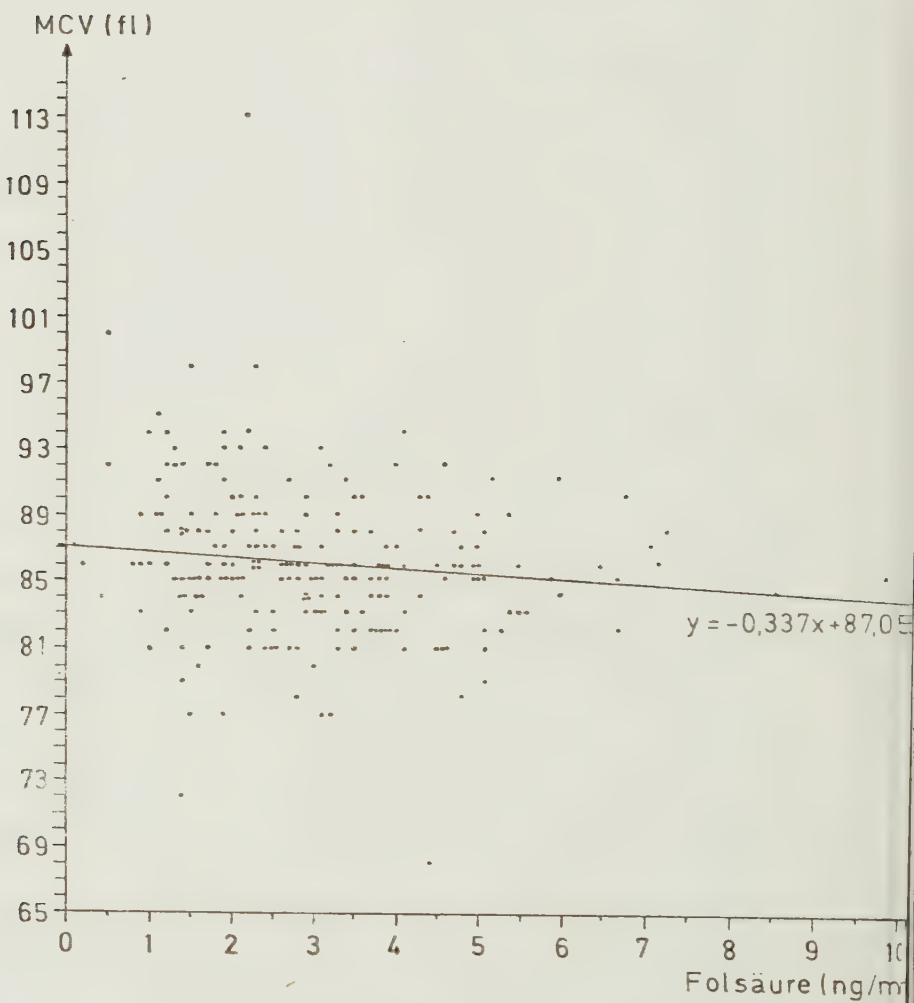


Abb. 20 Regressionsgerade für die Korrelation von Serumfolsäurekonzentration und MCV

3.7.5. Serumfolsäure und Serumeisen

In der Folsäureklasse unter $3 \mu\text{g/l}$ weisen 12 Patienten - dem entsprechen 10,1 % - einen erniedrigten Serumeisenspiegel, 106 - dem entsprechen 89,1 % - eine normale und ein Patient eine erhöhte Serumeisenkonzentration auf. In der Klasse von $3-4 \mu\text{g/l}$ haben 2 Patienten (4 %) einen erniedrigten, 47 Patienten (94 %) einen normalen und ein Patient einen erhöhten Serumeisenspiegel. Unter den Patienten mit normaler Serumfolsäurekonzentration weisen 4 (7,4 %) einen erniedrigten, 47 (87,0 %) einen normalen und 3 (5,6 %) einen erhöhten Serumeisengehalt auf.

Eine Übersicht gibt Tabelle 10.

Folsäure- konzentr. \ Eisen- konzentr.	↓	—	↑
< 3	12	106	1
3 - 4	2	47	1
> 4	4	47	3

Tab. 10 Serumfolsäurekonzentration und Serumeisenspiegel

3.7.6. Serumfolsäure, normale Segmentation und Hypersegmentation

Hypersegmentation des Blutbildes, die bei 48 Patienten ermittelt wurde, tritt zu 91,7 % in Verbindung mit Serumfolsäurekonzentrationen unter $3 \mu\text{g/l}$ auf, die übrigen 8,3 % Hypersegmentation finden sich bei Serumfolsäurekonzentrationen zwischen 3 und $4 \mu\text{g/l}$. Diesen offensichtlichen Zusammenhang zwischen erniedrigter, einen Folsäuremangel anzeigender Serumfolsäurekonzentration und Hypersegmentation der neutrophilen segmentkernigen Granulozyten unterstreicht der χ^2 -Test, der bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 0,1 % ($\chi^2 = 37,1 \geq \chi^2_{0,001; f=2} = 13,8$) einen hochsignifikanten Unterschied zwischen dem Auftreten von Hypersegmentation und normaler Segmentation in den drei zur Beurteilung der Serumfolsäurekonzentration gewählten Klassifizierungen aufzeigt.

Ein Serumfolsäurespiegel unter $3 \mu\text{g/l}$ geht in 37 % mit Hypersegmentation des Blutoildes, in 63 % der Fälle mit normaler Segmentation einher. Im Bereich von $3-4 \mu\text{g/l}$ tritt eine Hypersegmentation des Blutbildes mit einer Häufigkeit von 3,4 % auf, in den übrigen Fällen werden in dieser Klasse normal segmentierte Blutbilder beobachtet. In Kombination mit normaler Serumfolsäurekonzentration ist keine Hypersegmentation mehr nachweisbar.

Diese Beziehung verdeutlicht Tabelle 11.

Fols.- konz. \ Seg- men- tat.	Hypersegm.	normale Segm.
<3	44	75
3 - 4	4	46
>4	-	54

Tab. 11 Beziehung zwischen Serumfolsäurekonzentration, normaler Segmentation und Hypersegmentation

3.7.7. Serumfolsäure und Prozentsatz hypersegmentierter neutrophiler Granulozyten

Wird der Prozentsatz hypersegmentierter Neutrophiler mit der Serumfolsäurekonzentration korreliert, so ergibt sich bei einem Korrelationskoeffizienten von $r = -0,199$ ein signifikanter Zusammenhang bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,27 %. Ohne den sehr hohen Folsäurewert von $23 \mu\text{g/l}$, den eine Patientin aufwies und der als Ausreißer durch Nichteinhaltung der geforderten Nuchternheit betrachtet werden kann, besteht ein statistisch signifikanter Zusammenhang dieser beiden Parameter sogar bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von nur 0,001 % und einem Korrelationskoeffizienten von $r = -0,287$.

Dies bedeutet ein Ansteigen der Anzahl von hypersegmentierten Neutrophilen mit fallender Serumfolsäurekonzentration.

Eine graphische Darstellung dieser Korrelation zeigt Abbildung 21.

% hypersegm. Neutrophile

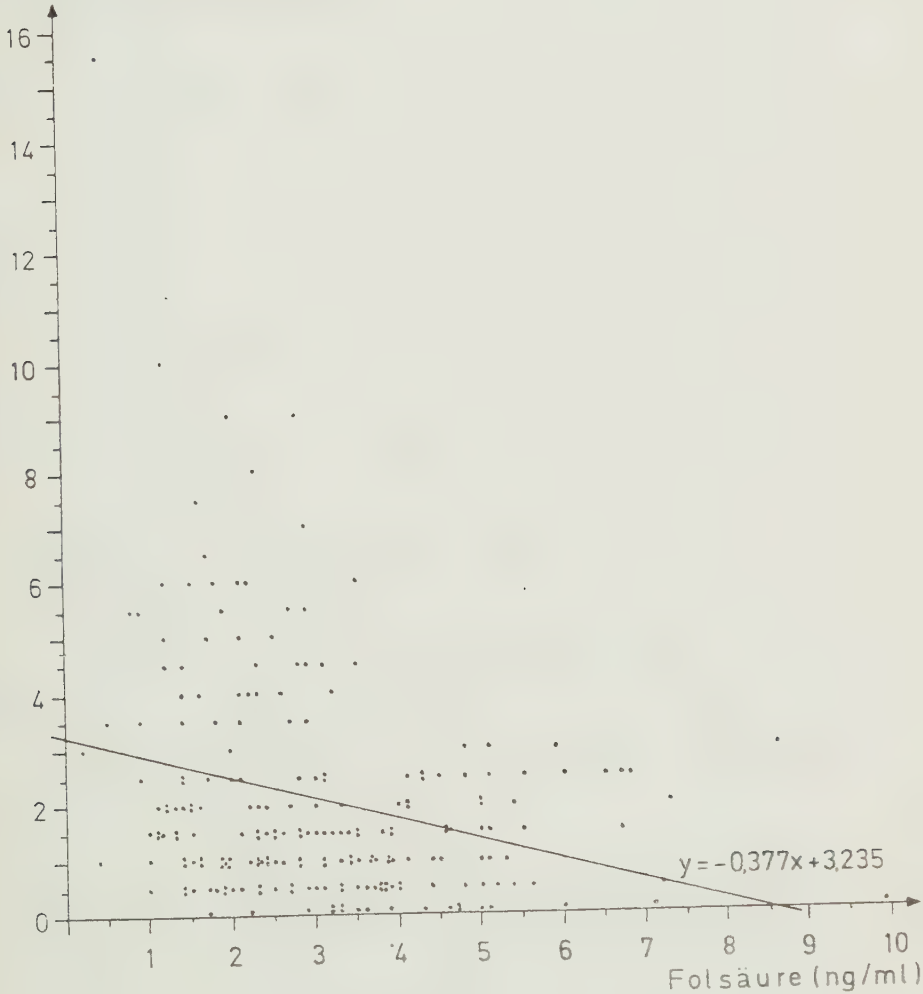


Abb. 21 Regressionsgerade für die Korrelation des Folsäuregehalts im Serum und des Prozentsatzes hypersegmentierter neutrophiler Granulozyten

3.8. Serumfolsäure, Blutbildparameter und Hypersegmentation bei Therapie mit Antikonvulsiva

Von den untersuchten Patienten wurden 29 mit Medikamenten vom Typ des Phenobarbiturats, Dihydrophenytoins oder Primidons behandelt. Der Mittelwert der Serumfolsäurekonzentration liegt für diese Patienten mit $1,993 \mu\text{g/l}$ bei einer Standardabweichung von $1,013 \mu\text{g/l}$ und einem Standardfehler des Mittelwerts (SEM) von $0,188 \mu\text{g/l}$ deutlich im Bereich des Folsäuremangels. Bei den 136 Patienten, die mit Sicherheit nicht mit diesen Medikamenten behandelt wurden, liegt dagegen der Mittelwert der Serumfolsäurekonzentration bei $3,5-5 \mu\text{g/l}$, die Standardabweichung beträgt $2,337 \mu\text{g/l}$, der SEM $0,200 \mu\text{g/l}$.

Eine graphische Darstellung dieser Werte zeigt Abbildung 22.

Bei den mit Antikonvulsiva behandelten Patienten findet sich bezüglich der Serumfolsäurekonzentration kein Wert im Normalbereich, 7 Patienten (24,1 %) zeigen Werte zwischen 3 und $4 \mu\text{g/l}$ im Bereich "auf Mangel verdächtig", 22 Patienten (75,9 %) Werte unter $3 \mu\text{g/l}$ im Bereich "sicher erniedrigt". Unter den 136 sicher nicht antikonvulsiv Behandelten liegen die Serumfolsäurekonzentrationen bei 62 Patienten (45,6 %) im Bereich "sicher erniedrigt", bei 31 Patienten (22,8 %) im Bereich "auf Mangel verdächtig", bei 43 Patienten (31,6 %) im Bereich normaler Konzentration.

Der Vergleich dieser beiden Kollektive in dem auf der Basis des Fisher - Behrens - Problems modifizierten T-Test ergibt einen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Serumfolsäurekonzentration bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit unter 0,1 % und einem T-Wert von 5,65.

Eine Anämie findet sich bei 6 (20,7 %) der 29 antikonvulsiv behandelten Patienten, dabei handelt es sich in einem Fall um eine hyperchrome Anämie, bei den nicht antikonvulsiv behandelten weisen 19 Patienten (14 %) eine Anämie auf mit ebenfalls einer hyperchromen Anämie darunter.

Makrozytose weisen 2 (7,1 %) der 28 antikonvulsiv behandelten, nicht anämischen Patienten auf.

Eine Hypersegmentation des Blutbildes findet sich unter den antikonvulsiv Behandelten bei 9 Patienten (31,0 %), die sämtlich Serumfolsäurekonzentrationen unter $3 \mu\text{g/l}$, also

Folsäure (ng/ml)

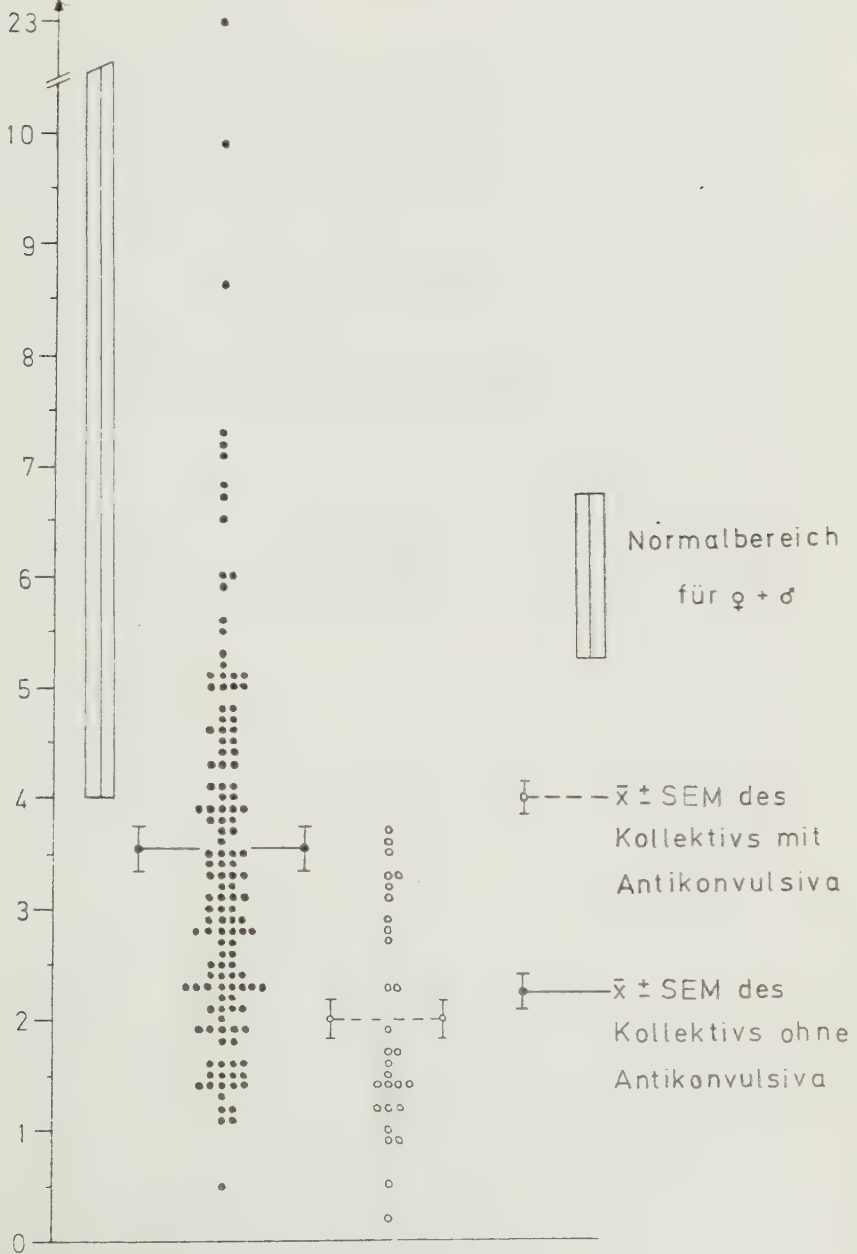


Abb. 22 Serumfolsäurekonzentrationen der 29 antikonvulsiv und 136 sicher nicht antikonvulsiv behandelten

im Bereich "sicher erniedrigt" aufweisen. Unter den 136 sicher nicht antikonvulsiv behandelten Patienten zeigen 24 (17,6 %) eine Hypersegmentation des Blutbildes, auch hier finden sich keine im Normbereich liegenden Serumfolsäurekonzentrationen, bei 20 dieser Patienten mit Hypersegmentation liegen die Serumfolsäurekonzentrationen unter $3 \mu\text{g/l}$, bei 4 dieser Patienten im Bereich von $3-4 \mu\text{g/l}$.

Im Vergleich der antikonvulsiv behandelten Patienten mit den sicher nicht antikonvulsiv behandelten weist bezüglich der Hypersegmentation des Blutbildes der χ^2 -Test ($\chi^2 = 2,68 \leq \chi^2_{0,05; f=1} = 3,84$) keinen signifikanten Unterschied nach.

3.9. Eisenmangel und Hypersegmentation

Ein Eisenmangel, der bei 18 Patienten vorliegt, tritt in 4 Fällen ohne gleichzeitigen Folsäuremangel auf. In keinem dieser 4 Fälle kann eine Hypersegmentation im Blutaussstrich beobachtet werden.

IV. D i s k u s s i o n

Über die Häufigkeit von Folsäuremangelzuständen bei Patienten, die wegen Psychosen, Demenz und anderer Krankheitsbilder psychiatrischer Behandlung bedürfen, finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben. Gleichermaßen differierende Ergebnisse finden sich in den verschiedensten Untersuchungen zu Teilaspekten der Beziehung zwischen dem Folsäuregehalt des Serums und Veränderungen des Blutbildes und des Differentialblutbildes.

Anhand der vorliegenden Studie soll auf Grund der gleichzeitigen Bestimmung aller interessierenden Meßgrößen an einem relativ großen Kollektiv der Versuch einer komplexeren Darstellung der Beziehung des Serumfolsäurespiegels zu Parametern des Blutbildes und Differentialblutbildes unter Berücksichtigung beeinflussender Größen unternommen werden. Ferner werden die Ergebnisse dieser Untersuchung mit denen anderer Autoren zu vergleichen sein.

Die Standardwerke der Psychiatrie, Neurologie und Biochemie enthalten keine Hinweise auf psychische oder neurologische Manifestationen des Folsäuremangels (17/26), während Veränderungen des hämatopoietischen Systems vergleichsweise in fast allen medizinischen Publikationen aufgeführt sind, die sich mit Folsäuremangel beschäftigen (66). Einen entscheidenden Beitrag zur Klärung des Problems, welche hämatologischen Veränderungen aus einem Folsäuremangel resultieren, lieferte dabei H E R B E R T 1962 (53), indem er unter experimentellen Bedingungen diese Fragestellung anging. In diesem nahezu klassischen Experiment, das er durchführte, um nachzuweisen, daß Folsäure synthetisierende Darmbakterien nicht in der Lage sind, einen Folsäuremangel beim Menschen zu verhindern, untersuchte er einen 35-jährigen gesunden Mann, der über 20 Wochen bis auf einen Restgehalt von ungefähr 5 µg pro Tag folsäurefreie Diät bekam, während alle anderen Vitamine substituiert wurden. Die Folgen dieser folsäurefreien Diät wurden chronologisch festgehalten. Nach

3 Wochen war der Serumfolsäuregehalt auf Werte unter 3 ng/ml gesunken. Nach 7 Wochen war die Hypersegmentation der neutrophilen Granulozyten zu erkennen, nach 18 Wochen zeigte der Blutausstrich Makroovalozytose der Erythrozyten. Megaloblastäre Veränderungen des Knochenmarks wurden nach 19 Wochen festgestellt, bevor sich kurz darauf die Anämie als letzte Veränderung einstellte.

Auch Hinweise auf psychische Alterationen in Zusammenhang mit Folsäuremangel stammen aus dieser Studie von H E R B E R T (53), der bei seinem Probanden von Schlaflosigkeit, Vergesslichkeit und Reizbarkeit berichtete.

Obwohl die zeitliche Reihenfolge dieser Veränderungen nicht unwidersprochen blieb - zum einen beobachteten C H A N A R I N et al. (21) an folsäurefrei ernährten Ratten vor Abfall des Serumfolsäurespiegels einen rapiden Abfall des Folsäuregehalts der Leber und werteten dies als Hinweis auf einen sich sehr schnell entwickelnden Gewebefolsäuremangel, zum anderen beschrieben E I C H N E R et al. (30) bei Alkoholikern die Entwicklung einer megaloblastischen Erythropoiese in Abhängigkeit von Folsäuremangel schon nach 5 Wochen - , ist als verursachendes Moment dieser Veränderungen der Folsäuremangel anerkannt.

Weitere Untersuchungen von psychisch Kranken ergaben einen Folsäuremangel bei bis zu 78 % dieser Patienten (116). H U N - T E R (67) fand bei 50 % von 75 psychiatrischen Patienten einen Folsäuremangel. C A R N E Y (15) untersuchte den Serumfolsäuregehalt bei 423 psychiatrischen Patienten und fand bei 24,8 % der Untersuchten einen Mangel, während der Mittelwert der Serumfolsäurekonzentration von 5,2 ng/ml sich nicht signifikant von dem einer gesunden Kontrollgruppe unterschied. Der Grund für den nicht signifikanten Mittelwertunterschied dürfte dabei jedoch auf den schon sehr niedrigen durchschnittlichen Serumfolsäuregehalt der Kontrollpersonen zurückzuführen sein. Einen ähnlich hohen Prozentsatz an Folsäuremangelzuständen, nämlich 26,1 %, fanden K Ä L L S T R Ö M und N Y L Ö F (74) 1969 unter den Patienten einer psychiatrischen Klinik in Schweden. K A R I K S et al. (75) ermittelten 1970 bei 411 psychisch Kranken ein Folsäuredefizit

für 33,2 % der Patienten. Ebenso fanden R E Y N O L D S et al. (108) bei einem Drittel der von ihnen untersuchten Patienten einen Folsäuremangel. In einer anderen Studie ermittelten R E Y N O L D S et al. (107) ein signifikant häufigeres Auftreten von Depressionen bei Patienten mit subnormalen Folsäurespiegeln, die bei 24 % der untersuchten psychisch Kranken auftraten. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung weisen einen sicheren Folsäuremangel mit Werten unter 3 µg/l bei 53,4 % der Patienten auf und subnormale Werte unter 4 µg/l bei 76,2 % aller Kranken. Diese Zahlen decken sich mit denen von S H U L M A N (116), der bei 78 % psychiatrischer Patienten subnormale Folsäurespiegel nachwies.

Tabelle 12 faßt diese Angaben zusammen.

Autor	Jahr	Prozentsatz subnormaler Folsäurespiegel
HUNTER et al. (67)	1967	50,0
CARNEY (15)	1967	24,8
SHULMAN (116)	1967	78,0
KÄLLSTRÖM et al. (74)	1969	26,1
KARIKS et al. (75)	1970	33,2
REYNOLDS et al. (108)	1971	33,3
REYNOLDS et. al. (107)	1970	24
eigene Untersuchung	1977	76,2

Tab. 12 Zusammenfassung der Ergebnisse verschiedener Autoren bzgl. subnormaler Folsäurespiegel bei psychiatrischen Patienten

Der hohe Anteil an Folsäuremangelzuständen, der in dieser Studie bei an Psychosen und Demenz Erkrankten ermittelt wurde, ist im Kontext zu sehen mit den Ergebnissen der von C A R N E Y (15) durchgeführten Untersuchung, in der ein hoher Prozentsatz an Folsäuremangel gerade bei organischen Psychosen und endogenen Depressionen ermittelt wurde, und der von R E Y N O L D S (102) stammenden Feststellung, daß vor allem Psychosen und De-

menz mit markantem Folsäuremangel einhergehen. Einen Zusammenhang zwischen Folsäuremangel und psychischer Erkrankung im Sinne einer kausalen Abhängigkeit zu postulieren, scheint auf Grund der bestehenden Kenntnisse über die Funktion der Folsäure und eines weitverbreiteten Folsäuremangels ohne Auftreten von psychischen Störungen (58) dabei nicht begründet, obwohl R E Y N O L D S (104) - im Gegensatz zu H U R D L E (68) und R E A D (97), die den Folsäuremangel als eine Folge psychischer und sozialer Faktoren betrachten, - nicht ausschließen will, daß einige der psychischen Symptome gerade bei älteren Patienten als Resultat eines bestehenden Folsäuredefizits anzusehen sind.

Eine Ausnahme stellen angeborene Enzymdefekte im Folsäuremetabolismus oder eine Behandlung mit antikonvulsiv wirkenden Medikamenten dar (102). Einen Fall von 5-10-Methylen-Tetrahydrofolsäure-Reduktasemangel beschreiben F R E E M A N et al. (36) in ihrer Veröffentlichung über ein 15-jähriges Mädchen, das im Alter von 11 Jahren eine Psychose entwickelte, die von mehreren Psychiatern als Schizophrenie diagnostiziert wurde. Der Zustand des Kindes besserte sich nach Behandlung mit Folsäure. Dieser Fall führte erneut zu Spekulationen über die Bedeutung der Folsäure bei Schizophrenien (5/80) und anderen psychischen Erkrankungen (99), zumal schon Fallbeschreibungen von erfolgreicher Behandlung mit Folsäure mehrfach publiziert worden waren. So berichteten S T R A C H A N und H E N D E R S O N 1967 (121) über zwei Patienten, die sich wegen Demenz in Behandlung befanden, wobei in beiden Fällen neben einem Folsäuremangel eine megaloblastische Anämie bestand. Behandlung mit Folsäure führte zur Remission der Anämie und zu einer merklichen Besserung der geistigen Fähigkeiten bei einem und zur kompletten Normalisierung beim zweiten Patienten. Einen ähnlich gelagerten Fall publizierte S A P I R A (112). R E Y N O L D S (103) beschrieb an Hand von vier Fällen eine durch Folsäuremangel induzierte, schizophrenieähnliche Psychose, die bei mit Antikonvulsiva vom Typ des Phenobarbitals, Dihydrophenytoins und Primidons therapierten Epileptikern auftrat, und zog daraus den Schluß, daß die durch diese Medikamente

hervorgerufenen Störungen im Folsäurestoffwechsel für die beobachteten psychopathologischen Symptome verantwortlich zu machen sind (101). Diese, den Folsäuregehalt erniedrigende Wirkung der Antikonvulsiva ist durch viele andere Studien zu diesem Thema gut untermauert (siehe Tab. 13), obwohl eine genaue Vorstellung über den Wirkmechanismus der Antikonvulsiva hierbei noch nicht existiert. Es werden allerdings vier verschiedene Hypothesen diskutiert: a) kompetitive Reaktion zwischen Folsäurecoenzymen und Antikonvulsiva (38), b) Malabsorption von Folsäure (24/88), c) Induktion von Enzymen des Folsäuremetabolismus (81/109), d) erhöhter Bedarf an Folsäurecoenzymen für die Hydroxylierung der Antiepileptika (72) oder für durch die Medikamente induzierte Leberenzyme (86).

Autor	Anzahl der Pat.	Prozentsatz subnormaler Serumfolsäurespiegel
KLIPSTEIN (78)	60	58
REYNOLDS et al. (106)	54	50
IBBOTSON et al. (71)	115	51
JENSEN et al. (72)	34	91
TAGUCHI (122)	48	75
eigene Untersuchung	29	100

Tab. 13 Zusammenfassung der Ergebnisse verschiedener Autoren bzgl. der Häufigkeit subnormaler Serumfolsäurespiegel bei antikonvulsiv behandelten Patienten

Auch die in dieser Studie ermittelten Ergebnisse unterstreichen den Einfluß der Antikonvulsiva auf den Serumfolsäurespiegel. Die gefundenen Werte decken sich fast mit denen, die R E Y N O L D S et al. (108) in einer Untersuchung an 33 Epileptikern mit psychiatrischen Krankheitsbildern ermittelten. Keiner der mit diesen Medikamenten behandelten Patienten, die in der vorliegenden Studie untersucht wurden, weist eine normale Folsäurekonzentration im Serum auf, 75,9 % haben Werte unter 3 µg/l - R E Y N O L D S et al. (108) fanden bei 87,9 %

ihrer Patienten Serumfolsäurekonzentrationen unter $2,5 \mu\text{g/l}$ -, der Folsäuremittelwert von $1,99 \mu\text{g/l}$ liegt etwas höher als der von R E Y N O L D S et al. (108) ermittelte, der sich auf $1,8 \mu\text{g/l}$ belief. Die in der vorliegenden Untersuchung mit antikonvulsiv wirkenden Pharmaka behandelten Patienten unterscheiden sich sogar mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von unter $0,1 \%$ bzgl. des Serumfolsäurewertes von den nicht antikonvulsiv behandelten, obwohl bei letzteren der Folsäuremittelwert mit $3,54 \mu\text{g/l}$ bereits erniedrigt ist.

Eine Beziehung zwischen megaloblastärer Anämie und antikonvulsiver Therapie, die sich nach heutigem Wissen über eine Senkung des Folsäuregehalts vermittelt, wurde zuerst von M A N N - H E I M E R et al. 1952 (84) und H A W K I N S et al. 1954 (46) aufgezeigt und in weiteren Studien zu $0,15 \%$ bis $0,75 \%$ bei antikonvulsiv behandelten Epileptikern gefunden (34/47), wobei die meisten der Patienten neuropsychiatrische Symptome aufwiesen. Auch in der vorliegenden Untersuchung wurde bei einem mit Pheonbarbital behandelten Patienten eine hyperchrome, makrozytäre Anämie gefunden bei gleichzeitigem Bestehen eines Folsäuremangels.

Untersuchungen über die Häufigkeit des Auftretens von Makrozytose bei antikonvulsiv behandelten Epileptikern, die keine Anämie entwickelt hatten, ergaben Prozentsätze von 0% bis 53% (siehe Tab. 14). E A S T H A M et al. (28/29) beschreiben sogar eine direkte Abhängigkeit des mittleren corpuskulären Volumens (MCV) von der täglichen Dosis an Phenobarbital.

In den dargelegten eigenen Ergebnissen tritt Makrozytose bei den 28 mit Medikamenten vom Typ der Antikonvulsiva therapierten Patienten, die keine makrozytäre Anämie aufweisen, bei 2 Patienten, also in $7,1 \%$ der Fälle auf.

Autor	Anzahl der Pat.	% Makro- zytose
KLIPSTEIN (78)	60	53
REYNOLDS et al. (106)	54	13
IBBOTSON et al. (71)	115	36
JENSEN et al. (72)	34	0
TAGUCHI (122)	48	46
eigene Untersuchung	28	7,1

Tab. 14 Prozentsatz an Makrozytose bei nicht anämischen,
mit Antikonvulsiva behandelten Epileptikern

Zum Komplex "Makrozytose im Rahmen eines Folsäuremangels" muß bemerkt werden, daß megaloblastische Veränderungen des Knochenmarks durchaus auftreten können, ohne eine begleitende Makrozytose im peripheren Blut erkennen zu lassen. So fand R E Y - N O L D S (100) bei 17 von 45 Patienten, bei denen eine Knochenmarkspunktion durchgeführt worden war, Megaloblasten, während bei nur 5 dieser Patienten eine Makrozytose den Weg zur Diagnose wies. Es kann also nicht ausgeschlossen werden, daß neben den in der vorliegenden Studie insgesamt beobachteten 5 Fällen von Makrozytose megaloblastäre Veränderungen des Knochenmarks bei einem höheren Prozentsatz von Patienten zu finden wären.

Als Ursache für die Makrozytose muß jedoch schon der gleichzeitig vorhandene Folsäuremangel verantwortlich gemacht werden, da in allen 5 Fällen, deren 3 dazu eine hyperchrome Anämie aufweisen, die Serumfolsäurekonzentrationen unter 3 µg/l liegen.

So sieht auch H E R B E R T (55) - im Gegensatz zu W I C K - R A M A S I N G H E et al. (136), die aus einer Untersuchung, die R E Y N O L D S et al. durchführten, auf eine geringe Korrelation zwischen Makrozytose und Serumfolsäurekonzentration schlossen, - den Grund gerade für makrozytäre Anämien zu 95 % in einem Folsäure- bzw. Vitamin B₁₂-Mangel. H E R B E R T (51) verzeichnet auch einen langsamen Anstieg des MCV mit fortschrei-

tendem Folsäuremangel, ein Ergebnis, das bei der negativen Korrelation von $r = -0,149$ und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 2,5 % durch die vorliegende Untersuchung bestätigt werden kann. Diese enge Korrelation gestattet bei genauer Betrachtung der in zugrunde liegenden Ergebnisse und des Verlaufs der Regressionsgeraden allerdings nicht den Schluß, daß ein erniedrigter Serumfolsäurespiegel eine Makrozytose nach sich zieht, denn die beobachtete Zunahme des mittleren corpuskulären Volumens erstreckt sich auf einen noch als normal definierten Bereich.

Der Erklärungsansatz für das Entstehen von Makrozytose bei Folsäuremangel ergibt sich bei Betrachtung der Funktion dieses Vitamins für die molekularen Prozesse der DNA-Synthese. Den limitierenden Faktor der DNA-Synthese stellt die Bereitstellung der DNA-spezifischen Nucleinsäure Thymin dar, deren de-novo-Synthese abhängt von der Verfügbarkeit der dazu erforderlichen Folsäurecoenzyme (59). Im Rahmen eines Folsäuremangelzustandes läuft also die DNA-Synthese nur eingeschränkt bzw. verzögert ab, so daß daraus ein Stadium unbalancierten Zellwachstums resultiert, in dem die RNA- und Proteinsynthese weiterlaufen, während die DNA-Synthese nur verzögert vorstatten geht. Die cytoplasmatischen Komponenten, speziell das Hämoglobin, werden also in dem verlängerten Zeitraum zwischen zwei Zellteilungen in excessiver Höhe weitergebildet; eine vergrößerte Zelle ist schließlich das Endprodukt dieses Prozesses (138). Dieser Volumenzuwachs in Abhängigkeit vom Hämoglobingehalt des Erythrozyten drückt sich in der von C R O F T et al. (22) beschriebenen engen Korrelation zwischen MCV und MCH aus und ist auch in den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung nachweisbar, die für die Abhängigkeit dieser beiden Parameter mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,920$ statistisch Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,001 % aufzeigt (siehe Abb. 23).

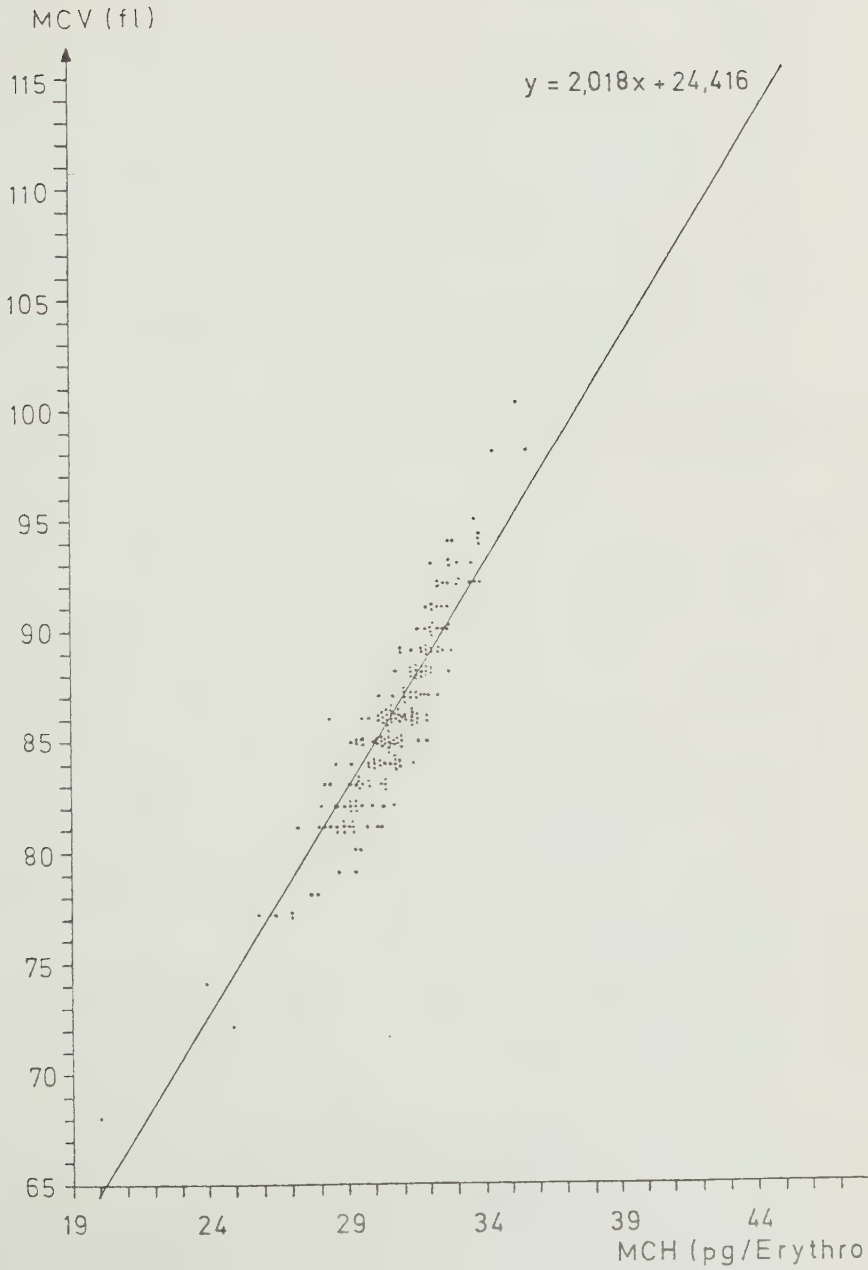


Abb. 22: Regressionsgerade für die Korrelation von MCH und

Ebenso wie das Auftreten einer Makrozytose ist die Entwicklung einer hyperchromen, makrozytären Anämie kein häufiges Ergebnis erniedrigter Serumfolsäurekonzentrationen (6/42), so daß die Diagnose eines Folsäuremangels nicht mehr auf dem indirekten Weg über diese Blutbildveränderung gestellt werden sollte, wie M O L L I N (90) es 1965 noch beschreibt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie, die bei nur 1,8 % der Patienten mit subnormalen Serumfolsäurekonzentrationen bzw. bei 2,5 % der Patienten mit Serumfolsäurespiegeln unter $3 \mu\text{g/l}$, also im Bereich sicheren Folsäuremangels, eine hyperchrome, makrozytäre Anämie ergaben, unterstreichen dies und liegen in der gleichen Größenordnung der von C A R N E Y (15) gefundenen Werte, der bei 105 psychisch kranken Patienten mit Folsäuremangel bei 28 dieser Patienten zwar eine Anämie, bei jedoch nur 7 Patienten eine Makrozytose fand. Desgleichen entdeckten B A T A T A et al. (8), die 100 ältere Patienten eines Krankenhauses untersuchten, die im Vergleich zu einer Kontrollgruppe signifikant niedrigere Serumfolsäurekonzentrationen aufwiesen, keinen Fall einer megaloblastischen Anämie. Auch L O W E N S T E I N et al. (82) ermittelten bei 193 schwangeren Frauen, bei denen zwar der tägliche Eisenbedarf, nicht jedoch der Folsäurebedarf substituiert wurde, keinen Fall von makrozytärer Anämie, obwohl 50 % dieser Patientinnen erniedrigte Folsäurespiegel aufwiesen und sogar 26 % megaloblastäre Veränderungen des Knochenmarks. Das seltene Auftreten einer Makrozytose, mit oder ohne Anämie, verbunden mit subnormalen Serumfolsäurekonzentrationen - in der vorliegenden Untersuchung errechnet sich dafür eine Häufigkeit von 3,0 % - beschreiben auch H A T T E R S L E Y et al. (44), die unter 45 Patienten mit Folsäuremangel keinen Fall von Makrozytose entdeckten. Nicht zu vergleichen mit den Ergebnissen dieser Patientenkollektive sind die an Alkoholikern erhobenen, da bei diesen neben einem relativ häufigen Folsäuremangel Makrozyten unabhängig davon auftreten (140/141) und, wie H E L L M A N N (48) nachwies, auf einen zusätzlichen Vitamin B_{12} -Mangel zurückzuführen sind.

Einer besonderen Betrachtung bedürfen die normochromen Anämien, denn ein bei vorhandenem Folsäuremangel zusätzlich

auftretender Eisenmangel kann eine hyperchrome, makrozytäre Anämie in Form einer normochromen Anämie maskieren (20/76/138), ein Problem, das gerade bei Schwangeren die exakte Diagnose einer Anämie erschwert (32). In der vorliegenden Studie finden sich 3 solcher Fälle, die alle eine Serumfolsäurekonzentration unter 3 $\mu\text{g/l}$ aufweisen, allerdings ohne weitere Hinweise auf einen Folsäuremangel wie zum Beispiel Hypersegmentation der neutrophilen Granulozyten zu liefern; hier soll jedoch schon darauf hingewiesen werden, daß ein niedriger Serumfolsäurespiegel nicht obligat mit einer Hypersegmentation vergesellschaftet ist, wie weiter unten noch genauer abzuhandeln sein wird. Eine Einordnung dieser 3 Fälle als vorwiegend manifeste Eisenmangelanämie im Anfangsstadium (138) erscheint somit nicht unproblematisch, zumal die gegenseitige Beeinflussung von Eisen - und Folsäuremangel Gegenstand kontroverser Diskussionen ist.

So fanden H A U R A N I et al. (45) unter 14 Patienten mit gesicherter Eisenmangelanämie 11, die gleichzeitig einen Folsäuremangel aufwiesen. Nach oraler Gabe von Folsäure stiegen die Konzentrationen dieses Vitamins im Blut dieser Patienten mit Eisenmangel an, so daß auf eine gute Resorption der Folsäure geschlossen wurde. C H A N R I N et al. (20) dagegen fanden, daß ein Eisenmangel eine wichtige Rolle bei der Entstehung eines Folsäuremangels spielen müsse, da sie in ihrer Untersuchung den höchsten Anteil an megaloblastischen Anämien und deutlichen Folsäuremangelzuständen bei Patienten mit zusätzlich ausgeprägtem Eisenmangel ermittelten. Zum gleichen Resultat kam auch eine Untersuchung von V E L E Z et al. (127), die bei Patienten mit einer schweren Eisenmangelanämie und zusätzlichem Folsäuremangel eine Remission megaloblastärer Knochenmarksveränderungen in den normoblastischen Zustand allein durch Eisensubstitution bei folsäurearmer Diät erreichten.

Ein Erklärungsansatz für diese differierenden Ergebnisse mag die Beobachtung von O M E R et al. (91) sein, der bei Bestehen einer Eisenmangelanämie eine Folsäureverteilungsstörung zwischen Plasma und Erythrozyten entdeckte. In der vorliegenden Untersuchung ergibt sich bei den Patienten mit erniedrigten

Serumeisenkonzentrationen eine Koinzidenz mit sicherem Folsäuremangel, also Serumfolsäurekonzentrationen unter $3 \mu\text{g/l}$, für 66,7 %, bei allen Patienten mit subnormalen Serumfolsäurespiegeln unter $4 \mu\text{g/l}$ eine Koinzidenz von 77,8 %. Die diesen Prozentsätzen zugrunde liegenden Ergebnisse sind in Tabelle 15 zusammengestellt.

Fols.-konz. \ Eisen-konz.	erniedr.	norm.	erhöht
<3	12	10	1
3-4	2	4	1
>4	4	1	3

Tab. 15 Serumfolsäurekonzentrationen in Beziehung zu Serumeisenkonzentrationen

Bei Patienten mit sicherer Eisenmangelanämie, Kriterium eines schweren Eisenmangelzustandes, ermittelten B A N E R - J E E et al. (7) einen gleichzeitig bestehenden Folsäuremangel für 54 % dieses Kollektivs; bei den in der vorliegenden Studie gefundenen 4 Eisenmangelanämien gehen 2 mit einem Serumfolsäurespiegel unter $3 \mu\text{g/l}$ einher, bei einem Patienten liegt die Serumfolsäurekonzentration im Bereich von 3-4 $\mu\text{g/l}$, der letzte Patient schließlich weist einen Serumfolsäuregehalt im Normbereich auf. An Hand dieser geringen Anzahl von Fällen kann natürlich über den Vergleich hinaus statistisch kein Zusammenhang aufgezeigt werden.

Die Koinzidenz von erniedrigten Serumeisen- und Serumfolsäurekonzentrationen beläuft sich für das in dieser Studie untersuchte Kollektiv auf 8,3 %, einer, verglichen mit der von H E R S H K O et al. (62) an 80 psychisch Kranken ermittelten Inzidenz bei ungefähr einem Viertel der Patienten, geringen Häufigkeit.

Die zur Beziehung zwischen der Serumeisen- und Serumfolsäurekonzentration ermittelten Daten der vorliegenden Studie lassen nicht ausschließen, daß im konkreten Einzelfall der erniedrigte

Eisengehalt einen Serumfolsäureabfall zur Folge haben kann, jedoch spielt der Eisenmangel für das Zustandekommen erniedrigter Serumfolsäurekonzentrationen des Gesamtkollektivs, das in dieser Studie untersucht wurde, keine maßgebliche Rolle.

Bezüglich des Auftretens von Anämien fällt insgesamt betrachtet auf, daß 78,1 % der in dieser Studie untersuchten anämischen Patienten im Bereich subnormaler Serumfolsäurekonzentrationen plaziert sind, ein Hinweis auf die Wichtigkeit der Folsäure für eine normale Erythropoiese. Es weisen allerdings nur 14,8 % der Patienten mit subnormaler Serumfolsäurekonzentration eine Anämie auf. Dies läßt die Annahme gerechtfertigt erscheinen, daß ein Folsäuremangel, der über längere Zeit besteht - die mittlere Aufenthaltsdauer der in der vorliegenden Studie untersuchten Patienten beträgt 158 Monate und bedingt damit eine relative Konstanz beeinflussender Bedingungen - nicht obligat in die Entwicklung einer Anämie einmünden muß, wie es auch von M A N Z O R et al. (25) beschrieben wurde.

Einen Vergleich mit anderen Autoren bezüglich der Auftretenshäufigkeit von Anämien bei Patienten mit subnormalen Serumfolsäurekonzentrationen zeigt Tabelle 16.

Autor	% Anämien bei Patienten mit subnormaler Serum- folsäurekonzentration
HURDLE et al. (68)	42,9
ELWOOD et al. (31)	34,2
READ et al. (97)	15
GOUGH et al. (40)	40
CARNEY (15)	26,7
CROFT et al. (22)	20,0
eigene Untersuchung	14,8

Tab. 16 Auftretenshäufigkeit von Anämien bei Patienten mit subnormalen Serumfolsäurekonzentrationen

Wie bereits weiter oben dargelegt, tritt nach H E R B E R T (53) bei Folsäuremangel die Hypersegmentation der neutrophilen

Granulozyten als erste zu beobachtende Veränderung im Blutausstrich auf.

Die erste Klassifizierung dieser Zellen stammt von A R N E T H (3), der den Terminus "Rechtsverschiebung" prägte, um auszudrücken, daß die Zellen mit einer größeren Anzahl an Kernsegmenten im Blutaustrieh quantitativ zunehmen. Seine Ansicht war, daß im Laufe des Wachstums und der Entwicklung der neutrophilen polymorphkernigen Leukozyten deren Segmentierungsgrad zunehme und so die Anzahl der Kernsegmente wachse. Diese Vorstellung hat sich als falsch erwiesen, denn die Anzahl der Kernsegmente ist bei Folsäuremangel determiniert durch den Charakter der Granulopoiese, die im Knochenmark sowohl zu Riesenmetamyelozyten führt als auch zu hypersegmentierten Neutrophilen, die dort von Beginn an in der Form hypersegmentierter Zellen vorliegen und dann in die Blutbahn übertreten (18). Ob die Riesenmetamyelozyten, die einen mehr als nur diploiden Chromosomensatz enthalten und auf einem prämitotischen Entwicklungsstadium zu verharren scheinen (135), als Vorläufer der hypersegmentierten Neutrophilen anzusehen sind, erscheint zweifelhaft; wahrscheinlich gehen sie im Knochenmark zugrunde (138) und sind auch gar nicht in der Lage, zu neutrophilen Granulozyten heranzureifen (18).

Außer einem Folsäure- oder Vitamin B₁₂-Mangel kommen als Ursachen für die Hypersegmentation noch chronische Nierenerkrankungen (118) und kongenitale Faktoren in Frage, die H E R B E R T (56) bei 1 % der Bevölkerung von Boston fand und die U N D R I T Z (125) als "erblich konstitutionelle Hochsegmentierung" beschreibt. Zusätzlich wird noch Eisenmangel als Grund einer Hypersegmentation diskutiert, wobei die Erklärung dafür sich ebenfalls aus der durch Eisenmangel induzierten, bereits oben zitierten Verteilungsstörung für Folsäure herleiten könnte. So fanden C H A N A R I N et al. (19) bei 7 von 28 Schwangeren mit normoblastischem Knochenmark eine Hypersegmentation des Blutbildes, die mit einem Abfall des Hämoglobingehalts und des MCHC auf subnormale Werte einherging und deren Ursache allein in einem Eisenmangel bestand. Zu ähnlichen Resultaten kamen auch V A R A D I et al. (126), die ebenfalls

Hypersegmentation mit Eisenmangel gekoppelt beobachteten; B E A R D und W E I N T R A U B (9) berichteten sogar über 3 Patienten, bei denen kein Folsäure - oder Vitamin B₁₂-Mangel vorlag, von Hypersegmentation, die bis zu 46 % der neutrophilen Granulozyten betraf und sich durch alleinige Eisensubstitution auf normale Segmentationsgrade zurückbildete.

In der hier vorliegenden Untersuchung tritt Eisenmangel ohne begleitenden Folsäuremangel bei 4 Patienten auf, geht jedoch in keinem der Fälle mit Hypersegmentation einher. Wird die Schwere des Eisenmangels berücksichtigt, gemessen am Auftreten einer Anämie, so zeigen 2 Patienten sicher nur einen leichten Eisenmangel, denn Erythrozytenzahl und Hämoglobingehalt befinden sich bei ihnen im Normbereich; die übrigen 2 weisen jedoch einen schweren Eisenmangel mit Anämie auf, wobei es sich einmal sogar um eine klassische hypochrome, mikrozytäre Eisenmangelanämie handelt, ohne daß dies eine Hypersegmentation der neutrophilen, polymorphkernigen Leukozyten nach sich zieht. Der in Tabelle 17 und 18 dargestellte Zusammenhang zwischen Serumfolsäurekonzentration, Eisenmangel und Segmentation der Neutrophilen läßt vielmehr im Vergleich mit der Auftretenshäufigkeit von Hypersegmentation bei subnormaler Serumfolsäurekonzentration die Vermutung aufkommen, daß der mit einem Folsäuremangel assoziierte Eisenmangel die Entwicklung einer Hypersegmentation verhindern könnte; die geringe Anzahl von Patienten mit Eisenmangel kann jedoch nicht als Grundlage zur Behauptung eines solchen Zusammenhanges dienen. Auch die Überprüfung auf Signifikanz eines Unterschiedes von subnormaler Serumfolsäurekonzentration mit Eisenmangel auf der einen und ohne Eisenmangel auf der anderen Seite bezüglich des Entstehens von Hypersegmentation ist mittels des χ^2 -Testes auf Grund fehlender statistischer Vorbedingungen nicht möglich.

	Hypersegm.	normale Segm.
subnorm. Serumfols.konz. + Eisenmangel	2	12
norm. Serumfols.konz. + Eisenmangel	-	4

Tab. 17 Aufgliederung der Eisenmangelzustände hinsichtlich der Serumfolsäurekonzentration und des Segmentationsgrades

	Hypersegm.	normale Segm.
subnorm. Serumfols.konz. + Eisenmangel	2	12
subnorm. Serumfols.konz. ohne Eisenmangel	42	65

Tab. 18 Beziehung zwischen subnormaler Serumfolsäurekonzentration, Serumeisenspiegel und Segmentationsgrad

Die Ergebnisse dieser Studie weisen bezüglich der Hypersegmentation eher auf eine starke Abhängigkeit von der Folsäure hin. So tritt im Bereich normaler Serumfolsäurekonzentration kein Fall von Hypersegmentation auf, und 8,3 % der Patienten mit Hypersegmentation des Blutbildes haben Serumfolsäurespiegel zwischen 3 und 4 $\mu\text{g/l}$, während die übrigen 91,7 % Serumfolsäurekonzentrationen unter 3 $\mu\text{g/l}$ aufweisen. In Tabelle 19 sind die absoluten Zahlen, die die Berechnungsgrundlage hierfür bilden, nochmals zusammengefaßt.

Fol- s.konz. \ Seg. men- tat.	Hypersegm.	normale Segm.
<3	44	75
3-4	4	46
>4	-	54

Tab. 19 Segmentationsgrad in Abhängigkeit von der Serumfolsäurekonzentration

Überprüft man diesen augenscheinlichen Zusammenhang zwischen erniedrigter Serumfolsäurekonzentration und Hypersegmentation mit Hilfe des χ^2 -Testes, ergibt sich Signifikanz für diesen Zusammenhang bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 0,1 %. Eine derartige Abhängigkeit der Hypersegmentation von erniedrigten Folsäurewerten postulieren auch die Arbeiten von verschiedenen anderen Autoren zu diesem Thema. So ergibt sich aus den Ergebnissen der Untersuchung von H U R D L E et al. (68) Signifikanz für diesen Konnex bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 1 %. A D A M et al. (1) ermittelten an 45 älteren Patienten einen Serumfolsäuregehalt von durchschnittlich 3,9 ng/ml für die 22 Patienten, die keine Hypersegmentation aufwiesen, gegenüber einem durchschnittlichen Serumfolsäurespiegel von 3,4 ng/ml für die übrigen 23 Patienten mit Hypersegmentation. H I B B A R D et al. (63) fanden in einer Studie an 637 schwangeren Frauen bei 116 der untersuchten subnormale Serumfolsäurespiegel und bei 66 der Frauen eine Hypersegmentation. Die Hypersegmentation war bei 58 der Frauen an eine subnormale Serumfolsäurekonzentration gekoppelt, woraus sich errechnet, daß 87,9 % der beobachteten Fälle von Hypersegmentation an erniedrigte Serumfolsäurespiegel gebunden waren. Der von diesen Autoren durchgeführte χ^2 -Test ergab für die Abhängigkeit dieser beiden Parameter statistisch Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 0,1 %, was dem in der vorliegenden Untersuchung ermittelten Niveau entspricht. Die von H I B B A R D et al. (63) getroffene Feststellung, daß Hypersegmentation der Neutrophilen häufiger mit Folsäuremangel schwereren Grades einhergeht,

deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, in der die bei weitem größte Häufigkeit von Hypersegmentation in der untersten Folsäureklasse, nämlich der mit einer Folsäurekonzentration von unter 3 $\mu\text{g/l}$ auftritt.

Obwohl Hypersegmentation auch bei normaler Serumfolsäurekonzentration auftreten kann, was von H A T T E R S L E Y et al. (44) bei 22,4 % von 58 Patienten, die allerdings bezüglich anderer Hypersegmentation induzierender Faktoren nicht weiter untersucht waren, und was von H I B B A R D et al. (63) bei 1,5 % der untersuchten 521 Patienten mit normalen Serumfolsäurekonzentrationen beschrieben wurde, begründet das über die Norm erhöhte Auftreten von hypersegmentierten neutrophilen Granulozyten den Verdacht auf das Vorliegen eines Folsäuremangels (77). Diese Aussage gestattet jedoch nicht den Schluß, daß die Hypersegmentation den besten Indikator für die Diagnose eines Folsäuremangels abgibt, wie F L E M I N G et al. (33) es in einer Studie, in der sie schwangere Frauen untersuchten, beschrieben; denn hier muß, den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung folgend, der Folsäuremangel mit Hypersegmentation als Resultat von dem Folsäuremangel ohne Entwicklung derselben unterschieden werden.

Im Bereich unter 3 μg Folsäure pro l Serum beläuft sich in der vorliegenden Untersuchung die Koinzidenz mit Hypersegmentation lediglich auf 37 %, für den Gesamtbereich subnormaler Serumfolsäurekonzentrationen reduziert sich dieser Anteil sogar auf 28,4 %. Vergleichbare Ergebnisse finden sich in der Studie von H I B B A R D et al. (63), die bei nur 50 % der Patienten mit subnormaler Serumfolsäurekonzentration gleichzeitig eine Hypersegmentation der Neutrophilen beobachteten, und in der Untersuchung von H U R D L E et al. (68), die bei 39 % der Probanden mit erniedrigten Serumfolsäurekonzentrationen Hypersegmentation feststellten. In diesem Zusammenhang sei bemerkt, daß 7,6 % der in der vorliegenden Studie untersuchten 119 Patienten mit Serumfolsäurekonzentrationen unter 3 $\mu\text{g/l}$ bereits eine Anämie entwickelt haben - einmal handelt es sich sogar um eine schwere hyperchrome, makrozytäre Anämie mit $2,41 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l und einem MCV von 113 fl -,

ohne daß bei ihnen gleichzeitig eine über die Norm erhöhte Zahl hypersegmentierter neutrophiler Granulozyten nachgewiesen werden kann, wobei Anämien mit begleitendem Eisenmangel in dieser Berechnung ausgeschlossen worden sind, so daß bei all diesen Patienten als Ursache für die Anämie ein Folsäuremangel angenommen werden kann. Nimmt man dabei die Entwicklung einer Anämie als Indikator für das Bestehen eines schweren Folsäuremangelzustandes (63), so ergibt sich, daß die Erklärung für die fehlende Entwicklung einer Hypersegmentation nicht ausnahmslos im geringeren Schweregrad des Folsäuremangels zu finden sein kann.

Die Beobachtung, daß subnormale Serumfolsäurekonzentrationen in nicht allzu hohem Umfang mit Hypersegmentation gekoppelt sind, steht nicht in Widerspruch zu der in dieser Untersuchung gefundenen hochsignifikanten Korrelation zwischen dem Prozentsatz hypersegmentierter neutrophiler Granulozyten und der Serumfolsäurekonzentration, denn der Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der Ordinate liegt bei 2,718 % hypersegmentierter Zellen, also noch im Normalbereich; bei Nicht-Berücksichtigung des Ausreißerwertes der Serumfolsäurekonzentration von 23 µg/l liegt der Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der Ordinate bei 3,235 % hypersegmentierter Zellen, also eben über dem Normalbereich. Diese Kurvenverläufe der Regressionsgeraden verdeutlichen, daß ein stark erniedrigter Serumfolsäurespiegel nicht zwangsläufig mit einer Hypersegmentation der neutrophilen Granulozyten im Blutbild einhergeht.

Die Gesamtleukozytenzahl liegt im Rahmen eines Folsäuremangels innerhalb des Normalbereiches oder darunter (138). Das Auftreten einer Leukozytopenie in diesem Zusammenhang wird in der Literatur vor allem für leichte bis mittelgradige Anämien beschrieben, wobei mit dem Schweregrad der Anämie die Reduktion der Leukozytenzahl zunimmt (18/79).

Die in der vorliegenden Studie ermittelten Werte zeigen diesbezüglich keinen anderen Zusammenhang auf. Von den 10 Patienten mit Leukozytopenie - dem entsprechen 4,5 % des Gesamtkollektivs - weist ein jeder subnormale Serumfolsäure-

konzentrationen auf, und die Hälfte von ihnen hat zusätzlich eine leichte bis mittelgradige Anämie. Zudem läßt sich feststellen - Tabelle 20 verdeutlicht diesen Zusammenhang -, daß mit dem Auftreten einer Anämie eine stärkere Reduzierung der Leukozytenzahl verbunden ist, was sich darin äußert, daß

Leukozytenzahl	Anämie	Normämie
3200	+	
3800	+	
3800	+	
3900	+	
4200	+	
3400		+
4000		+
4000		+
4000		+
4100		+

Tab. 20 Leukozytenzahl in Beziehung zu Anämie und Normämie

4 von 5 anämischen Patienten gegenüber nur 1 von 5 normämischen Patienten Leukozytenzahlen unter 4000 aufweisen.

Eine Auffälligkeit bietet in den vorliegenden Ergebnissen das Differentialblutbild, das für 25,1 % aller Patienten einen erhöhten Prozentsatz segmentkerniger neutrophiler Granulozyten nachweist. Die gleiche Veränderung findet sich auch in zwei Fallbeschreibungen von F L E X N E R und H A R T M A N N (34), die über Folsäuremangel und megaloblastäre Anämie bei antikonvulsiv behandelten Epileptikern berichteten. Dem eine Bedeutung im Sinne eines möglichen kausalen Zusammenhanges beizumessen, scheint jedoch unzulässig in Hinblick auf die nicht unerhebliche Ungenauigkeit der Auszählungsmethode der Leukozyten, die nur 100 Zellen von ungefähr 5000 und mehr erfaßt. Legt man nämlich zur Schätzung des wahrscheinlichen Fehlers bei der Differenzierungszählung ein 95 %-Konfidenzintervall zugrunde (16) - Tabelle 21 gibt dieses Konfidenzintervall in Auszügen wieder -, so kann ein gezählter Wert

von 70 % Segmentkernigen bei weiteren Zählungen Werte zwischen

Prozentsatz des gezählten Zelltyps	95 % - Konfidenzintervall bei Auszählung von 100 Leukozyten
---------------------------------------	--

50	40,0 - 60,0
60	50,2 - 69,8
70	60,8 - 79,2
80	72,0 - 88,0

Tab. 21 95 % - Konfidenzintervall bei Auszählung von 100
Leukozyten nach C A R T W R I G H T (16)

60,8 % und 79,2 % ergeben. Bei Berücksichtigung dessen liegen die Ergebnisse von noch 1,8 % aller Patienten jenseits der oberen Normgrenze, so daß ein mutmaßlicher Zusammenhang mit der Serumfolsäurekonzentration der Grundlage entbehrt.

Unterzieht man all die oben referierten Ergebnisse einer abrundenden Betrachtung, fällt auf, daß trotz eines wohl über einen längeren Zeitraum bestehenden Folsäuredefizits - die mittlere Aufenthaltsdauer der untersuchten Patienten beläuft sich auf 158 Monate- gravierende Veränderungen im Blutbild nicht in dem zu erwartenden Umfang festzustellen sind.

Versucht man eine Wertung dieser Beobachtungen, ergibt sich zum einen die Konsequenz, bei Verdacht auf einen Folsäuremangel sich nicht der indirekten Nachweismethode über eventuell zu erwartende Blutbildveränderungen zu bedienen, da die Fä-
lette der möglicherweise zu beobachtenden Veränderungen immer nur Hinweis auf einen Folsäuremangel sein kann und in einem nicht geringen Teil tatsächlicher Mangelzustände derartige Veränderungen ganz und gar fehlen. Die sicherere und relativ unaufwendige Methode des direkten Nachweises eines Folsäuremangels mit dem Radioassay ist hier vorzuziehen. Zum anderen sollte vielleicht in Erwägung gezogen werden, bei ninsichtlich Folsäuremangelzuständen exponierten Patienten die direkte

Bestimmung dieses Vitamins in die Routinediagnostik einzubeziehen.

V. Zusammenfassung

Es wurden 223 Patienten, die sich in stationärer psychiatrischer Behandlung befanden, hinsichtlich Veränderungen des Blutbildes, des Differentialblutbildes, des Segmentationsgrades der neutrophilen, segmentkernigen Granulozyten, des Eisen- und Folsäuregehaltes im Serum untersucht. Von diesen Patienten wurden 29 mit Medikamenten vom Typ der Antikonvulsiva behandelt.

Eine hyperchrome, makrozytäre Anämie wurde bei 3 Patienten entdeckt, die sämtlich eine Serumfolsäurekonzentration unter $3 \mu\text{g/l}$ aufwiesen, eine normochrome Anämie bestand bei 25 Patienten, eine hypochrome, mikrozytäre Anämie bei 4 Patienten. Von all diesen 32 Patienten mit Anämie zeigten 25 (78,1 %) subnormale Serumfolsäurekonzentrationen, die hypochromen, mikrozytären Anämien beruhten sämtlich auf einem Eisenmangel. Bezogen auf die Gesamtzahl der 169 Patienten mit subnormalen Serumfolsäurespiegeln belief sich somit die Häufigkeit des Auftretens einer Anämie in dieser Gruppe auf 14,8 %. Eine signifikante Korrelation zwischen der Serumfolsäurekonzentration und der Erythrozytenzahl konnte nicht nachgewiesen werden.

Hypersegmentation der neutrophilen, segmentkernigen Granulozyten im Blutbild fand sich bei 48 Patienten und ging in jedem der beobachteten Fälle mit subnormaler Serumfolsäurekonzentration einher: 44 dieser Patienten (91,7 %) wiesen eine Serumfolsäurekonzentration unter $3 \mu\text{g/l}$ auf. Mittels des χ^2 -Testes wurde statistisch Signifikanz für die Abhängigkeit der Hypersegmentation des Blutbildes von einer erniedrigten Serumfolsäurekonzentration bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit unter 0,1 % nachgewiesen. Bezogen auf die Gesamtzahl der 169 Patienten mit subnormalen Serumfolsäurekonzentrationen belief sich die Häufigkeit des Auftretens von Hypersegmentation des Blutbildes in dieser Gruppe auf 28,4 %. Weiterhin wurde eine hochsignifikante Korrelation zwischen der Serumfolsäurekonzentration und der Anzahl an hypersegmentierten Neutrophilen gefunden: mit fallender Serumfolsäurekonzentration kam es zu einem Anstieg der hypersegmentierten neutrophilen Granulozyten.

Eine Abhängigkeit der Hypersegmentation des Blutbildes von alleinigem Eisenmangel konnte nicht nachgewiesen werden.

Bei 18 Patienten (8,1 %) trat ein erniedrigter Serumeisenspiegel auf.

Bei 119 Patienten (53,4 %) lag die Serumfolsäurekonzentration unter 3 $\mu\text{g/l}$, bei 50 Patienten (22,4 %) im Bereich zwischen 3 und 4 $\mu\text{g/l}$; nur 53 Patienten (23,8 %) wiesen eine normale Serumfolsäurekonzentration zwischen 4 bis 20 $\mu\text{g/l}$ auf, und eine Patientin lag mit 23 $\mu\text{g/l}$ gerade jenseits der oberen Normgrenze.

Zusätzlich wurde ein die Serumfolsäurekonzentration senkender Effekt von Medikamenten aus der Reihe der Antikonvulsiva bestätigt. Es ließ sich ein hochsignifikanter Unterschied bezüglich der Serumfolsäurekonzentration zwischen den mit Antikonvulsiva behandelten Patienten und den sicher nicht antikonvulsiv behandelten Patienten nachweisen.

Aus einer abschließenden Beurteilung aller ermittelten Ergebnisse rührt die Empfehlung, einer direkten Bestimmung der Serumfolsäurekonzentration mittels Radioassay gerade bei Patienten mit exponierten Krankheitsbildern eine größere Bedeutung beizumessen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Adam, H. M.; Dawson, A. A.; Wigzell, F. W.; Roy, K.
Polymorph hypersegmentation in the elderly
- Age Ageing, 2 (1973) 183 - 188
2. Angier, D. M.; Boothe, A.; Hutchings, T.; Mowat, M. M.;
Semb, H.; Stokstad, M.; Subba Row, D.; Walter T.;
Cosulich, B.; Farrenbach, G.; Hultquist, D.P.; Kuh, C.;
Northey, J. L.; Seeger, P.; Sickels, A.D.; Smith, R.;
Structure and synthesis of the "Lactobacillus casei
factor"
- J. Am. Chem. Soc., 103 (1946) 667 - 679
3. Arneth, J.
Die neutrophilen weißen Blutkörperchen bei Infektions-
krankheiten
- Jena, Fischer, 1904
4. Baker, H.; Herbert, V.; Frank, O.; Pasher, I.; Hunter, S. H.
Wasserman, R.; Sobotka, H.;
A microbiological method for detecting folic acid defi-
ciency in man
- Clin. Chem., 5 (1959) 275
5. Baldessarini, R. J.;
Metabolic hypothesis in schizophrenia
- N. Engl J. Med., 292 (1975) 527 - 528
6. Ball, E. W.; Giles, C.;
Folic acid and vitamin B₁₂ levels in pregnancy and their
relation to megaloblastic anaemia
- J. Clin. Pathol., 17 (1964) 165 - 174
7. Banerjee, D. K.; Arati Maitra; Basu, A. K.; Chatterje, J. B.;
Status of labile folate in iron deficiency anaemia
- J. Assoc. Physicians India, 24 (1976) 209 - 217
8. Batata, M.; Spray, G. H.; Bolton, F. G.; Higgins, G.;
Wollner, L.;
Blood and bone marrow changes in elderly patients, with
special reference to folic acid, vitamin B₁₂, iron and
ascorbic acid

9. Beard, M.; Weintraub, L. R.;
Hypersegmented neutrophilic granulocytes in iron deficiency
- Br. J. Haematol., 16 (1969) 161 - 163
10. Blakely;
The biochemistry of folic acid and related pteridines
- New York, John Wiley & Sons inc., 1969
11. Brecher, G.; Schneiderman, M.; Williams, G.Z.;
Evaluation of electronic red blood cell counter
- Am. J. Clin. Pathol., 26 (1956) 1439 - 1449
12. British Medical Journal
Leitartikel: Nutritional folate deficiency
- Br. Med. J., 2 (1968) 377 - 379
13. Brittin, G. M.; Brecher, G.; Johnson, C. A.;
Elimination of error in hematocrit produced by excessive EDTA: experience with the Coulter Counter Model S
- Am. J. Clin. Pathol., 52 (1969) 780 - 783
14. Brittin, G. M.; Brecher, G.; Johnson, C. A.;
Evaluation of the Coulter Counter Model S
- Am. J. Clin. Pathol., 52 (1969) 679 - 689
15. Carney, M. W. P.;
Serum folate values in 423 psychiatric patients
- Br. Med. J., 4 (1967) 512 - 516
16. Cartwright, G. E.;
Diagnostic laboratory hematology
- New York, Grune & Stratton, 1968
17. Cecil - Loeb;
Textbook of medicine
Ed. P. B. Beesm and W. McDermott, 13th edition
- Philadelphia, Saunders, 1971
18. Chanarin, I.;
The megaloblastic anaemias
- Oxford and Edinburgh, Blackwell Scientific Publications, 1

19. Chanarin, I.; Rothman, D.; Ardeman, S.; Berry, V.;
Some observations on the changes preceding the development of megaloblastic anaemia in pregnancy with particular reference to the neutrophil leucocytes
- Br. J. Haematol., 11 (1965) 557 - 562
20. Chanarin, I.; Rothman, D.; Berry, V.;
Iron deficiency and its relation to folic acid status in pregnancy: results of a clinical trial
- Br. Med. J., 1 (1965) 480 - 485
21. Chanarin, I.; Smith, G. N.; Wincour, V.;
Development of folate deficiency in the rat
- Br. J. Haematol., 16 (1969) 193 - 195
22. Croft, R. F.; Streeter, A. M.; O'Neill, B. J.;
Red cell indices in megaloblastosis and iron deficiency
- Pathology, 6 (1974) 107 - 117
23. Dacie, J. V.; Lewis, S. M.;
Practical haematology, 3rd ed.,
- London, Churchill, 1963
24. Dahlke, M. B.; Mertens-Roeseler, E.;
Malabsorption of folic acid due to diphenylhydantoin
- Blood, 30 (1967) 341 - 351
25. Day, P. L.; Langston, W. C.; Shukers, C. F.;
Leukopenia and anemia in the monkey resulting from vitamin deficiency
- J. Nutr., 9 (1935) 637 - 644
26. DeGruchy, G. C.;
Clinical haematology in medical practice, 3rd ed.
- Edingburgh, Blackwell, 1970
27. Dunn, R. T.; Foster, L. B.;
Radioassay of serum folate
- Clin. Chem., 19 (1973) 1101 - 1105
28. Eastham, R. D.; Jancar, J.;
Haematological findings and fits during the prevention and treatment of folate deficiency in long-term anti-convulsant therapy
- J. Clin. Pathol., 24 (1971) 767

29. Eastham, R. D.; Jancar, J.; Cameron, J. D.;
Red cell folate and macrocytosis during long-term anti-convulsant therapy in non-anaemic, mentally retarded epileptics
- Br. J. Psychiatry, 126 (1975) 263 - 265
30. Eichner, E. R.; Pierce, H. I.; Hillman, R. S.;
Folate balance in dietary induced megaloblastic anemia
- N. Engl. J. Med., 284 (1971) 933 - 938
31. Elwood, P. C.; Shinton, N. K.; Wilson, C. I. D.; Sweetnam, P. Fraser, A. C.;
Haemoglobin, vitamin B₁₂ and folate levels in the elderly
- Br. J. Haematol., 27 (1971) 557 - 563
32. Fawns, H. T.;
Folic acid and anaemia
- Nurs. Tim., 73 (1977) 737 - 739
33. Fleming, A. F.; De V. Hendrickse, J. P.; Allan, N. C.;
The prevention of megaloblastic anaemia in pregnancy in Nigeria
- J. Obstet. Gynaecol. Brit. Commonw., 75 (1968) 425 - 432
34. Flexner, J. M.; Hartmann, R. C.;
Megaloblastic anemia associated with anticonvulsant drugs
- Am. J. Med., 28 (1960) 386 - 396
35. Ford, J. E.; Salter, D. M.; Scott, K. J.;
The folate-binding protein in milk
- J. Dairy Res., 36 (1969) 435 - 448
36. Freeman, J. M.; Finkelstein, J. D.; Mudd, S. H.;
Folate-responsive homocystinuria and 'schizophrenia'
- N. Engl. J. Med., 292 (1975) 491 - 496
37. Gitis, J.; Mandelbaum-Shavit, F.; Grossowicz, N.;
Binding of folic acid and derivatives by milk
- Am. J. Clin. Nutr., 22 (1969) 156 - 162
38. Girdwood, R. H.; Lenman, J. A. R.;
Megaloblastic anaemia during primidone therapy
- Br. Med. J., 1 (1956) 146 - 147

39. Goresky, C. A.; Watanabe, H.; Johns, D. G.;
The renal excretion of folic acid
- J. Clin. Invest., 42 (1963) 1841 - 1849
40. Gough, K. R.; McCarthy, C.; Read, A. E.; Mollin, D. L.;
Waters, A. H.;
Folic acid deficiency in rheumatoid arthritis
- Br. Med. J., 1 (1964) 212 - 217
41. Gundersen, H. J.;
Serum folate in psychiatric patients under long-term
treatment with tricyclic neuroleptic drugs.
- Acta Psychiatr. Scand., 45 (1969) 133 - 136
42. Hall, C. A.; Bardwell, S. A.; Allen, E. S.; Rappazzo, M. E.;
Variation in plasma folate levels among groups of
healthy persons
- Am. J. Clin. Nutr., 28 (1975) 854 - 857
43. Harper, T. A.;
A modified "Aseptic Addition" assay procedure for the
measurement of serum "Folic-Acid" activity
- Nature, 207 (1965) 947 - 949
44. Hattersley, P. G.; Engels, J. L.;
Neutrophilic hypersegmentation without macrocytic
anemia
- West. J. Med., 121 (1974) 179 - 184
45. Haurani, F. I.; Smukler, N.; Atwater, J.;
Combined deficiency anemia in chronic disease
- Ann. Clin. Lab. Sci., 2 (1972) 161 - 167
46. Hawkins, C. F.; Meynell, M. J.;
Macrocytosis and macrocytic anaemia caused by anti-
konvulsant drugs
- Q. J. Med., 27 (1958) 45 - 63
47. Hawkins, C. F.; Meynell, M. J.;
Megaloblastic anaemia due to phenytoin sodium
- Lancet, 2 (1954) 737 - 738

48. Heilmann, E.;
Folsäuremangel
- Dtsch. Med. Wochenschr., 102 (1977) 1818 - 1819
49. Heilmann, E.; Bönninghoff, E.;
Folsäurebestimmungen im Serum und den Erythrozyten
mittels einer kompetitiven Proteinbindungsmethode
mit 125-Jod-Markierung
- Schweiz. Med. Wochenschr., 106 (1976) 1821 - 1823
50. Herbert, V.;
Aseptic addition method for *Lactobacillus casei* assay
of folate activity in human serum
- J. Clin. Pathol., 19 (1966) 12 - 16
51. Herbert, V.;
Biochemical and hematologic lesions in folic acid deficiency
- Am. J. Clin. Nutr., 20 (1967) 562 - 569
52. Herbert, V.;
Drugs effective in megaloblastic anemias: vitamin B₁₂
and folic acid in the pharmacological basis of therapeutics, 4th ed., ed. by L. S. Goodman and A. Gilman
- New York, The Macmillan Co., 1970
53. Herbert, V.;
Experimental nutritional folate deficiency in man
- Trans. Assoc. Am. Physicians, 75 (1962) 307 - 320
54. Herbert, V.;
Folic acid and vitamin B₁₂.
Modern nutrition in health and disease, 5th ed.
- Philadelphia, Lea and Febinger, 1973
55. Herbert, V.;
Megaloblastic anemia as a problem in world health
- Am. J. Clin. Nutr., 21 (1962) 1115 - 1120
56. Herbert, V.;
Symposium on folic acid deficiency
- Proc. Soc. Med., 57 (1964) 377 - 384

57. Herbert, V.;
The assay and nature of folic acid activity in human serum
- J. Clin. Invest., 40 (1961) 81 - 91
58. Herbert, V.;
The diagnosis and treatment of folic acid deficiency
- Med. Clin. North Am., 46 (1962) 1365 - 1378
59. Herbert, V.; Das, K. C.;
The role of vitamin B₁₂ and folic acid in haemato - and other cell - poiesis
- Vitam. Horm., 34 (1976) 1 - 30
60. Herbert, V.; Larrabee, A. R.; Buchanan, J. N.;
Studies on the identification of folate compound of human serum
- J. Clin. Invest., 41 (1962) 1134 - 1138
61. Herbert, V.; Zalusky, R.;
Interrelations of vitamin B₁₂ and folic acid metabolism: folic acid clearance studies
- J. Clin. Invest., 41 (1962) 1263 - 1276
62. Hershko, C.; Grossowicz, M; Kesten, S.; Izak, G.;
Serum and erythrocyte folates in combined iron and folate deficiency
- Am. J. Clin. Nutr., 28 (1975) 1217 - 1222
63. Hibbard, B.M.; Hibbard, E. D.;
Neutrophil hypersegmentation and defective folate metabolism in pregnancy
- J. Obstet. Gynaecol. Brit. Commonw., 78 (1971) 776 - 780
64. Hill, P. W.; Dawson, D. W.;
Evaluation of a commercial radioisotopic kit for folate assays
- J. Clin. Pathol., 30 (1977) 449 - 453
65. Hogan, A. G.; Parrot, E. M.;
Anemia in chicks due to vitamin deficiency
- J. Biol. Chem., 128 (1939) 507 - 517

66. Howard, J.S.;
Folate deficiency in psychiatric practice
- Psychosomatics, 16 (1975) 112 - 115
67. Hunter, R.; Jones, M.; Jones, T.G.; Matthews, D. M.;
Serum B₁₂ and folate concentrations in mental patients
- Br. J. Psychiatry, 113 (1967) 1291 - 1295
68. Hurdle, A. D. F.; Picton Williams, T. C.;
Folic acid deficiency in elderly patients admitted
to hospital
- Br. Med. J., 2 (1966) 202 - 205
69. Huser, H. J.;
Häufige und seltene Formen von Vitamin B₁₂- und Folsäure-
mangelanämien
- Schweiz. Med. Wochenschr., 105 (1975) 1823 - 1829
70. Hutchings, E. L.; Bonnes, N.; Peterson, W. H.;
Growth factors for bacteria. XIII. Purification and
properties of an eluate factor required by certain
lactic acid bacteria
- J. Biol. Chem., 141 (1941) 521 - 528
71. Ibbotson, R. N.; Dilella, E.A.; Horwood, J. M.;
Studies on deficiency and absorption of folates in
patients on anticonvulsant drugs
- Australas. Ann. Med., 16 (1967) 144 - 150
72. Jensen, O. N.; Oleson, O. V.;
Folic acid and anticonvulsive drugs
- Arch. Neurol., 21 (1969) 208 - 214
73. Jukes, T. H.; Stickstad, E. L. R.;
Pteroylglutamic acid and related compounds
- Physiol. Rev., 28 (1948) 51 - 106
74. Källström, B.; Nylöf, R.;
Vitamin B₁₂ and folic acid in psychiatric disorders
- Acta Psychiatr. Scand., 45 (1969) 137 - 152
75. Karick, J.; Perry, C. W.;
Folic acid deficiency in psychiatric patients
- Med. J. Austr., 1 (1970) 1192 - 1195

76. Kitay, D. Z.; Habort, R. A.;
Iron and folic acid deficiency in pregnancy
- Clin. Perinatol., 2 (1975) 255 - 273
77. Kitay, D. Z.; Hogan, W. J.; Eberle, E.; Mynt, T.;
Neutrophil hypersegmentation and folic acid deficiency
in pregnancy
- Am. J. Obstet. Gynecol., 104 (1969) 1163 - 1173
78. Klipstein, F. A.;
Subnormal serum folate and macrocytosis associated
with anticonvulsant drug therapy
- Blood, 23 (1964) 68 - 86
79. Kohler, H. G.; Garrett, J. V.;
Leucopenia as a manifestation of folic acid deficiency
in pregnancy
- J. Obstet. Gynaecol. Brit. Commonw., 70 (1963) 828 - 832
80. Lancet
Folate-responsive schizophrenia
- Lancet, 1 (1975) 1283 - 1284
81. Latham, A. N.; Millbank, L.; Richens, A.; Rowe, D. J. F.;
Liver enzyme induction by anticonvulsant drugs and
its relationship to disturbed calcium and folic acid
metabolism
- J.Clin. Pharmacol., 13 (1973) 337 - 342
82. Lowenstein, L.; Cantlie, G.; Ramos, O.; Brurton, L.;
The incidence and prevention of folate deficiency in
a pregnant clinic population
- Can. Med. Assoc. J., 95 (1966) 797 - 806
83. Lubran, M. M.;
The biochemistry of folic acid and vitamin B₁₂
- Ann. Clin. Lab. Sci., 1 (1971) 236 - 244
84. Mannheimer, E.; Pakesch, F.; Reimer, E. E.; Vetter, H.;
Die hämatologischen Komplikationen der Epilepsiebehand-
lung mit Hydantoinkörpern
- Med. Klin., 42 (1952) 1397 - 1401

85. Manzoor, M.; Runcie, J.;
Folate-responsive neuropathy: report of 10 cases
- Br. Med. J., 1 (1976) 1176 - 1178
86. Maxwell, J. D.; Hunter, J.; Stewart, D.A.; Ardeman, S.;
Williams, R.;
Folate deficiency after anticonvulsant drugs: an effect
of hepatic enzyme induction
- Br. Med. J., 1 (1972) 297 - 299
87. Metz, J.; Zalusky, R.; Herbert, V.;
Folic acid binding by serum and milk
- Am. J. Clin. Nutr., 21 (1968) 289 - 297
88. Meynell, M. J.;
Megaloblastic anaemia in anticonvulsant therapy
- Lancet, 1 (1966) 487
89. Mitchell, H. K.; Snell, E. E.; Williams, R. J.;
The concentration of 'folic acid'
- J. Am. Chem. Soc., 63 (1941) 2284
90. Mollin, D. L.;
The haematological investigation of neurological lesions
associated with megaloblastic anaemia
- Proc. R. Soc. Med., 58 (1965) 725 - 728
91. Omer, A.; Finlayson, N. D. C.; Shearman, D. J. C.;
Samson, R. R.; Girdwood, R. H.;
Plasma and erythrocyte folate in iron deficiency and
folate deficiency
- Blood, 30 (1970) 821 - 828
92. Orfanakis, N.G.; Ostlund, R.E.; Bishop, C. R. Athens, J. W.
Normal blood leucocyte concentration values
- Am. J. Clin. Pathol., 53 (1970) 647 - 651
93. Perry, J.; Lumb, M.; Laundry, M.; Reynolds, E. H.;
Chanarin, I.;
Role of vitamin B₁₂ in folate coenzyme synthesis
- Br. J. Haematol., 32 (1976) 243 - 248

94. Pfiffner, J. J.; Binkley, S. B.; Bloom, E. S.; Brown, R. A.; Bird, O. D.; Emmett, A. D.; Hogan, A. G.; O'Dell, B. L.;
Isolation of the antianemia factor (vitamin B_C) in
crystalline form from liver
- Science, 97 (1943) 404 - 405
95. Pinkerton, P. H.; Spence, I.; Ogilvie, C. J.; Ronald, W. A.; Marchant, P.; Ray, P. K.;
An assessment of the Coulter counter Model S
- J. Clin. Pathol., 23 (1970) 68 - 76
96. Ratanasthien, K.; Blair, J. A.; Leeming, R. J.; Cooke, W. T.; Melikian, V.;
Folates in human serum
- J. Clin. Pathol., 27 (1974) 875 - 879
97. Read, A. E.; Gough, K. R.; Pardoe, J. L.; Nicholas, A.;
Nutritional studies on the entrants to an old people's home, with particular reference to folic acid deficiency
- Br. Med. J., 2 (1965) 843 - 848
98. Reizenstein, P.;
Errors and artefacts in serum folic acid assays
- Acta Med. Scand., 178 (1965) 133 - 139
99. Reynolds, E. H.;
Anticonvulsant drugs, folic acid metabolism, fit frequency and psychiatric illness
- Psychiatr. Neurol. Neurochir., 74 (1971) 167 - 174
100. Reynolds, E. H.;
Anticonvulsant therapy, folic acid metabolism and mental symptoms
- Excerpta Med. Congr. Ser., 117 (1966) 363 - 364
101. Reynolds, E. H.;
Effects of folic acid on the mental state and fit frequency of drug treated epileptic patients
- Lancet, 1 (1967) 1086 - 1088

102. Reynolds, E. H.;
Neurological aspects of folate and vitamin B₁₂ metabolism
- Clin. Haematol., 5 (1976) 661 - 696
103. Reynolds, E. H.;
Schizophrenia-like psychosis of epilepsy and disturbances of folate and vitamin B₁₂ metabolism induced by anticonvulsant drugs
- Br. J. Psychiatry, 113 (1967) 911 - 919
104. Reynolds, E. H.;
Vitamin B₁₂ and folate deficiencies
- Br. J. Psychiatry, 113 (1967) 681 - 683
105. Reynolds, E. H.; Chanarin, I.; Matthews, D. M.;
Neuropsychiatric aspects of anticonvulsant megaloblastic anaemia
- Lancet, 1 (1968) 394 - 397
106. Reynolds, E. H.; Milner, G.; Matthews, D. M.; Chanarin, I.;
Anticonvulsant therapy, megaloblastic haemopoiesis and folic acid metabolism
- Q. J. Med., 35 (1966) 521 - 537
107. Reynolds, E. H.; Preece, J. M.; Bailey, J. M.; Coppen, A.;
Folate deficiency in depressive illness
- Br. J. Psychiatry, 117 (1970) 287 - 292
108. Reynolds, E. H.; Preece, J. M.; Johnson, L.;
Folate metabolism in epileptic and psychiatric patients
- J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 34 (1971) 726 - 732
109. Richens, A.; Waters, A. H.;
Acute effects of phenytoin on serum folate concentrations
- Br. J. Pharmacol., 41 (1971) 414 - 415
110. Rothenberg, S. P.; daCosta, M.; Rosenberg, Z.;
A radioassay for serum folate: use of a two-phase sequential incubation, ligand binding system
- N. Engl. J. Med., 286 (1972) 1335 - 1339

111. Rudzki, Z.; Nazurak, M.; Kimber, J.;
The clinical value of the radioassay of serum folate
- J. Lab. Clin. Med., 87 (1976) 859 - 867
112. Sapira, J. D.; Tullis, S.; Mullaly, R.;
Reversible dementia due to folate deficiency
- South. Med. J., 68 (1975) 776 - 778
113. Schwarz/Mann
Data on file at Schwarz/Mann,
- New York, Becton, Dickinson and Company, 1975
114. Sharp, A. A.; Ballard, B. C. D.;
An evaluation of the Coulter S counter
- J. Clin. Pathol., 23 (1970) 327 - 335
115. Shojania, A. M.; Hornady, G.;
Effect of antimicrobial agents on serum folate assay
- Am. J. Clin. Pathol., 52 (1969) 454 - 456
116. Shulman, R.;
A survey of vitamin B₁₂ deficiency in an elderly
psychiatric population
- Br. J. Psychiatry, 113 (1967) 241 - 251
117. Shulman, R.;
The present status of vitamin B₁₂ and folic acid
deficiency in psychiatric illness
- Can. Psychiatr. Assoc. J., 17 (1972) 205 - 216
118. Siddiqui, J.; Freeburger, R.; Freeman, R. M.;
Folic acid, hypersegmented polymorphnuclear leucocytes
and the uremic syndrom
- Am. J. Clin. Nutr., 23 (1970) 11 - 16
119. Snell, E. E.; Peterson, W. H.;
Growth factors for bacteria. X. Additinal factors
required by certain lactic acid bacteria
- J. Bacteriol., 39 (1940) 273
120. Stokstad, E. L. R.;
Some properties of a growth factor for Lactbacillus
casei
- J. Biol. Chem., 149 (1943) 573 - 574

121. Strachan, R. W.; Henderson, J. G.;
Dementia and folate deficiency
- G. J. Med., 142 (1967) 189 - 204
122. Taguchi, C.;
Clinical and experimental studies on folic acid deficiency due to anticonvulsants. II. Investigations on patients receiving anticonvulsants and experimental study on the effect of diphenylhydantoin on the absorption of folic acid in rats.
- Acta Med. Okayama, 25 (1971) 551 - 566
123. Tajuddin, M.; Gardyna, H. A.;
Radioassay of serum folate with use of a serum blank and nondialysed milk as folate binder
- Clin. Chem., 19 (1973) 125 - 126
124. Trinder, P.;
The improved determination of iron in serum
- J. Clin. Pathol., 9 (1956) 170 - 172
125. Undritz, E.;
Eine neue Sippe mit erblich-konstitutioneller Hochsegmentierung der Neutrophilenkerne
- Schweiz. Med. Wochenschr., 88 (1958) 1000 - 1001
126. Varadi, S.; Abbott, D.; Elwis, A.;
Correlation of peripheral white cell and bone marrow changes with folate levels in pregnancy and their clinical significance
- J. Clin. Pathol., 19 (1966) 33 - 36
127. Velez, H.; Restrepo, A.; Vitale, J. J.; Hellerstein, E. E.;
Folic acid deficiency secondary to iron deficiency in man - remission with iron therapy and a diet low in folic acid.
- Am. J. Clin. Nutr., 19 (1966) 27 - 36
128. Waddell, C. C.; Domstad, P. A.; Pircher, F. J.;
Lerner, S.R.; Brown, J. A.; Lawhorn, B. K.;
Serum folate levels
- Am. J. Clin. Pathol., 66 (1976) 746 - 752

129. Waters, A. H.; Mollin, D. L.;
Studies on the folic acid activity of the human serum
- J. Clin. Pathol., 14 (1961) 335 - 344
130. Waxman, S.; Corcino, J. J.; Herbert, V.;
Drugs, toxins and dietary amino acid affecting vitamin B₁₂ or folic acid absorption or utilization
- Am. J. Med., 48 (1970) 599 - 608
131. Waxman, S.; Schreiber, C.;
Measurement of serum folate levels and serum folic acid binding protein by ³H-PGA radioassay
- Blood, 42 (1973) 281 - 290
132. Waxman, S.; Schreiber, C.; Herbert, V.;
Measurement of serum levels of folic acid by radioisotope dilution assay
- Blood, 36 (1970) 858 - 862
133. Waxman, S.; Schreiber, C.; Herbert, V.;
Radioisotopic assay for measurement of serum folate levels
- Blood, 38 (1971) 219 - 228
134. Weir, D. G.;
The pathogenesis of folic acid deficiency in man
- Ir. J. Med. Sci., 143 (1974) 3 - 20
135. Wickramasinghe, S. N.; Pratt, J.R.;
Meyelocyte proliferation in pernicious anaemia
- Acta Haematol., 44 (1970) 37 - 46
136. Wickramasinghe, S. N.; Williams, G.; Saunders, J.; Durston, J. H. J.;
Megaloblastic erythropoiesis and macrocytosis in patients on anticonvulsants
- Br. Med. J., 4 (1975) 136 - 137
137. Wills, L.; Clutterbuck, P. W.; Fordyce-Evans, B. D.;
A new factor in the production and cure of macrocytic anaemias and its relation to other haemopoetic principles curative in pernicious anaemia
- Biochem. J., 31 (1937) 2136 - 2147

138. Wintrobe, M. M.;
Clinical Hematology, 7th. ed.
- Philadelphia, Lea and Febiger, 1976
139. World Health Organisation
Requirements of ascorbic acid, vitamin D, vitamin B₁₂,
folate and iron
- WHO Tech. Rep. Ser. 452, (1970)
140. Wu, A.; Chanarin, I.; Levi, A. J.;
Macrocytosis of chronic alcoholism
- Lancet, 1 (1974) 829
141. Wu, A.; Chanarin, I.; Slavin, G.; Levi, A. J.;
Folate deficiency in the alcoholic - its relationship
to clinical and haematological abnormalities, liver
disease and folate stores
- Br. J. Haematol., 25 (1975) 469 - 478

Frau Prof. Dr. med. E. Heilmann danke ich für die Überlassung des Themas sowie die freundliche Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit. Weiterhin Dank sagen möchte ich all denjenigen Helfern, die zum organisatorischen und arbeitstechnischen Gelingen beigetragen haben.

Lebenslauf

Am 3. März 1955 wurde ich als zweites Kind der Prokuristin Elfriede Pohlmann und des Kaufmannes Werner Pohlmann in Warendorf geboren. Von 1961 bis 1965 besuchte ich die Volksschule meines Heimatdorfes Beelen, 1965 wechselte ich dann zum staatlichen Gymnasium Laurentianum in Warendorf, wo ich im Mai 1973 am altsprachlichen Zweig mein Abitur machte. Im Oktober 1973 nahm ich an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster das Medizinstudium auf. Im August 1975 bestand ich dort die ärztliche Vorprüfung, im August 1976 den ersten, im März 1979 den zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung. Nach der einjährigen praktischen Ausbildung an den Städtischen Kliniken in Dortmund schloß ich im April 1980 mit der dritten ärztlichen Prüfung mein Medizinstudium an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster ab. Am 28. Mai 1980 wurde mir die Approbation als Arzt vom Regierungspräsidenten in Münster erteilt. Seit Juni 1980 leiste ich meinen Zivildienst an den Städtischen Kliniken in Dortmund. Seit Mai 1980 bin ich mit Anna Formann verheiratet.

